Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. H. Roemer

# Klinische, morphologische und histochemische Untersuchung zur Funktion des Corpus luteum bei Tubargravidität und in der frühen Schwangerschaft

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

**Barbara Uhsadel**

aus Hamburg

1963

7536

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. H. Roemer

# Klinische, morphologische und histochemische Untersuchung zur Funktion des Corpus luteum bei Tubargravidität und in der frühen Schwangerschaft

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Barbara Uhsadel
aus Hamburg

R. U. H.V.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dekan: Professor Dr. Dr. E. Fröhlich

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Roemer

2. Berichterstatter: Dozent Dr. W. Gössner

# Inhalt


Seite

Einleitung

1. Medizinhistorischer Überblick über die Erforschung des Gelbkörpers 1
2. Fragestellung der eigenen Untersuchung 2

I. Zur Anatomie und Endokrinologie des Corpus luteum graviditatis

1. Morphologie des Corpus luteum graviditatis 3
2. Funktion des Corpus luteum graviditatis 5

II. Die Chemie und Histochemie des Corpus luteum

1. Fette und Lipoide, Ascorbinsäure, Plasmalogen, PAS-positive Substanzen 8
2. Enzymologie des Corpus luteum 9
   a) Verschiedene Enzyme 10
   b) Die bisherigen Befunde über die alkalische Phosphatase im reifenden Follikel und im Corpus luteum 12

III. Eigene Untersuchungen

1. Klinische Befunde - Anamnese und Klinik der untersuchten Fälle 16
   a) Tubargraviditäten 16
   b) Uterine Graviditäten 27
2. Zur histologisch-histochemischen Methodik 29
   a) Enzymhistochemie 29
   b) Die alkalische Phosphatase 30
   c) Histologisch-histochemische Methode 32
      (1) Fixierung und Einbettung 32
      (2) Färbungen 33
         (a) Haematoxylin-Eosin-Färbung 33
         (b) PAS-Reaktion nach Mc Manus u. Hotchkiss 34
         (c) Azokupplungsreaktion 35
3. Histologisch-histochemische Befunde 40
   a) Tubargraviditäten 40
   b) Uterine Graviditäten 47

Seite

IV. Diskussion der Befunde

1. Anamnese und Klinik der untersuchten Fälle 51
2. Morphologie der Corpora lutea graviditatis 52
3. Histochemie der Mucoproteide und der alkalischen Phosphatase in den Corpora lutea graviditatis 55
   a) PAS-Reaktion 55
   b) Alkalische Phosphatase-Nachweis 56

V. Zusammenfassung 59

Anhang

Abbildungen von Untersuchungsergebnissen 61

Tabellen: 1. Literaturübersichtstabelle histochemischer Enzymnachweise 64
2. Übersichtstabelle über die alkalische Phosphatase im Ovar 67
3. Übersicht über Anamnese und Klinik der untersuchten Fälle 70
4. Übersicht über Klinik, morphologische und histochemische Befunde 72

Literatur 74

# Einleitung

## 1. Medizinhistorischer Überblick über die Erforschung des Gelbkörpers

Erstmalig wurden das menschliche Ei und die Entstehung des Corpus luteum aus der Theka interna des rupturierten Follikels in der Monographie "De ovi mammalium et hominis genesis epistola" 1827 durch VON BAER beschrieben. Nach der 1842 veröffentlichten Untersuchung BISCHOFFs über die Entstehung der Luteinzellen aus Granulosa-, also Follikelepithelzellen bestanden zwei extreme Theorien, die WALDEYER 1870 zusammenfaßte: "Die Wahrheit liegt in der Mitte: sowohl die Membrana granulosa als auch die Theka interna des Follikels oder, schärfer ausgedrückt, deren Gefäße betheiligen sich gleichmäßig an der Bildung der gelben Körper". SOBOTTA versuchte 1899 den epithelialen Ursprung zu beweisen und kommentierte die Probleme: "Die Geschichte des Corpus luteum und seiner Entfaltung war eine der größten Irrungen auf dem Gebiete der Histologie". Heute gilt zur Formation des Corpus luteum von STÖHR, VON MÖLLENDORFF und GOERTTLER: "Durch Einlagerung von Lipoidtröpfchen und besonders von gelbem Lipoid (Lutein) in das Plasma der Follikelepithelzellen (Luteinzellen) und auch in die Thekazellen (Paraluteinzellen) entsteht die charakteristische Gelbfärbung der Zellen. Die Zellen werden zu Luteinzellen und sondern das Progesteron ab".

J.G. CLARK, der 1898 in einer Arbeit über "Ursprung, Wachstum und Ende des Corpus luteum" die Ansicht VON BAERs bestätigte, bemerkt dort im übrigen kritisch: "Die Mehrzahl der Arbeiten über das Corpus luteum übergehen stillschweigend die Function oder schließen mit der Angabe, daß darüber nichts Bestimmtes bekannt sei". Er zitiert MINOT, der in seinem umfangreichen Werk "Human Embryology"

1894 diesem Gegenstand nur folgende Zeilen widmet: "Was die Funktion des Corpus luteum betrifft, haben wir kaum eine Kenntnis". CLARKs Forschung zeitigt ein heute überraschendes Ergebnis: "Das Corpus luteum hat die Aufgabe, die Circulation im Ovarium aufrechtzuerhalten". Nur wenige Jahre später, 1903, veröffentlichte FRAENKEL seine ausführlichen Erörterungen über die kausalen Zusammenhänge zwischen Follikelsprung und Corpus luteum-Bildung im Ovar und Menstruation und Nidation im Uterus, die er einleitet mit den Worten: "Der verstorbene Breslauer Embryologe Gustav BORN ist der alleinige Vater der ursprünglichen nicht publicirten Hypothese, das Corpus luteum verum graviditatis müsse nach seinem Bau und Entwicklungsgang eine Drüse innerer Secretion sein, ausgestattet mit der Function, die Ansiedlung und Entwicklung des befruchteten Eies im Uterus zu veranlassen. Schwerkrank ersüchte er mich, die experimentelle Verfolgung dieser Idee zu übernehmen". FRAENKEL zieht in seiner Untersuchung zur Verdeutlichung des Kausalzusammenhanges zwischen Corpus luteum und Nidation die Extrauteringravidität heran, bei der, ohne daß das Ei das Cavum uteri erreicht, eine Decidua graviditatis uteri entsteht. So wird hier erstmalig in der Literatur die Beziehung zwischen Corpus luteum und Extrauteringravidität behandelt.

## 2. Fragestellung der eigenen Untersuchung

Die vorliegende Untersuchung versucht, die Funktion des Corpus luteum bei Tubargravidität und in der frühen Schwangerschaft durch klinische, morphologische und histochemische Auswertung der Operationspräparate von 15 Patientinnen abzuklären. Hierbei wurde auf die endokrine Funktion des Corpus luteum im Zusammenhang mit dem Fruchttod bei extrauteriner Gravidität geachtet. Auf diese Weise mag man neben der anatomisch-mechanischen Erklärung des Fruchttodes durch Tubarabort oder Tubarruptur zu einer endokrinen Deutung für das Absterben der Frucht kommen.

## I. Zur Anatomie und Endokrinologie des Corpus luteum graviditatis

### 1. Morphologie des Corpus luteum graviditatis

Eine "glanduläre Metamorphose" hat Robert MEYER die Bildung des Corpus luteum aus dem rupturierten GRAAFschen Follikel genannt. Obwohl heute meist angenommen wird, daß das Corpus luteum durch Transformation der Granulosa- und der Theka interna-Zellen entsteht, spiegelt sich die jahrzehntelange Diskussion über den Ursprung aus nur einer dieser beiden Zellarten noch in der gegenwärtigen Literatur und in dem neuesten Zweig der histologischen Forschung, der Histochemie, wider. Im Jahre 1953 veröffentlichten die Japaner YASUDO und DOI die Ergebnisse histochemischer Untersuchungen am Kaninchenovar zu diesem Problem. Das Verhalten der PAS-Reaktion, der alkalischen Phosphatase, des Ribonucleinsäuregehaltes, der Intensität der Fettfärbung, der Lipaseaktivität sollten erneut Hinweis geben, daß der Ursprung des Luteingewebes in den thekalen Elementen zu suchen sei. Ihre Thekatheorie hat bei uns keine Anerkennung gefunden.

Th. E. MALONE untersuchte histochemisch im Jahre 1957 den zelluläre Ursprung des Corpus luteum der Albinoratte mit der Neotetrazolium-Reaktion. Er kommt zu dem Ergebnis, daß der Aufbau der Luteinzellschicht sowohl den Granulosa- als auch den Thekazellen zufällt.

Eine Plasmaleibvergrößerung, die Einlagerung von gelblichen Lipoiden, die Vaskularisierung des Luteingewebes von der Theka interna ausgehend, und schließlich die Faltung der Luteinschicht bestimmen den Prozeß der Umbildung der nach dem Follikelsprung zurückgebliebenen Hüllen des GRAAFschen Follikels zum Corpus luteum. Die Theka- oder Paraluteinzellschicht ist im histologischen Präparat als schmaler Belag kleinerer Zellen auf den großen Zellen der Granulosaluteinschicht zu erkennen. Ist sie nicht als durchgehende Schicht nachweisbar, so werden oftmals Reste als Anhäufungen dieser auffallend kleineren Zellen in den Buchten und Falten der Granulosaluteinschicht gefunden. Der

Paraluteinzellbelag soll durch den stark wachsenden Gelbkörper der Druckatrophie anheimfallen.

Das Corpus luteum graviditatis unterscheidet sich makroskopisch von dem Corpus luteum menstruationis durch einen größeren Durchmesser infolge von Vermehrung des Luteingewebes. Der größte Durchmesser des Corpus luteum menstruationis beträgt 12 - 15 mm, der des Corpus luteum graviditatis liegt bei 20 - 30 mm. Ein weiterer makroskopisch deutlicher Unterschied ist das Zentrum des Organs, das beim Corpus luteum menstruationis mit Blut oder mit einer schleimig-gallertigen, fibrinreichen Substanz gefüllt ist, während das Corpus luteum graviditatis in den allermeisten Fällen eine mediane Cyste ohne Blut aufweist. Mikroskopisch fallen folgende Unterschiede auf: Die Granulosaluteinzellen des Schwangerschaftsgelbkörpers sind auf das Doppelte der Granulosaluteinzellen des Corpus luteum menstruationis vergrößert. Ihr Durchmesser kann bis zu 50 $\mu$ betragen. Kapillarisierung und bindegewebige Durchsetzung sind beim Corpus luteum graviditatis verstärkt, so daß MILLER ein hypertrophisches Bindegewebe als charakteristisch nachwies, das an Spindelzellen reicher ist als das beim Corpus luteum menstruationis. In der Granulosaluteinzellschicht haben RABL, SEITZ, PINTO, MILLER und MARCOTTY während der ersten Hälfte der Schwangerschaft kolloide Tropfen beobachtet, die im Corpus luteum menstruationis nicht auftreten. Ähnliche Kolloid-Einlagerungen wurden in der Hypophyse und der Schilddrüse, also den beiden endokrinen Drüsen, die in der Schwangerschaft hypertrophieren, nachgewiesen (KEHRER 1910). Gegen Ende der Schwangerschaft, während die Kolloidtröpfchen weniger werden, beobachteten MILLER und später NELSON und GREEN (1958) zunehmende Kalkniederschläge. Diese beiden Erscheinungen - Kolloidtröpfchen und Kalkniederschläge - sind nach MILLER derart spezifisch für das Corpus luteum graviditatis, daß man es auf diese Weise vom Corpus luteum menstruationis zu differenzieren vermag.

Die Lebensdauer des Corpus luteum menstruationis beträgt 12 - 14 Tage, d.h. es funktioniert wahrscheinlich bis zum 25. - 27. Cyclustag bei

28-tägigem Cyclus. Das Corpus luteum graviditatis bildet sich erst nach dem 4. Schwangerschaftsmonat allmählich zurück (HALBAN, SEITZ). Es tritt eine Schrumpfung und Verfettung der Granulosa- und wenig später auch der Thekaluteinzellen ein. In den Kern des Corpus luteum sproßt als Beginn einer Organisation junges Bindegewebe ein.

2. Funktion des Corpus luteum graviditatis

Nach der Umwandlung in Luteingewebe erfolgt eine Inkretion von Oestrogen (TONUTTI), Progesteron sowie Progesteronderivaten (FUJII, HOSHINO, AOKI 1957). Es gelang 1958 CAGNAZZO und SALVADORI bei der Aufarbeitung der Progesteronsubstanz, fünf Fraktionen von Progesteronabkömmlingen zu isolieren, die sowohl zur Fortführung des cyklischen Geschehens im weiblichen Organismus als auch speziell zur Verwertung und Erhaltung eventuell befruchteter Eier unerläßlich sein sollen.

Einige Autoren bezweifeln die schwangerschaftserhaltende Funktion des Corpus luteum graviditatis (GLASSER, MICHAELS, GREENHILL, SCHNYLER, SPIEGLER, TULSKY, KOFF, JONES, WELL, MELINKOFF). Sie berichten von Entfernungen des Gelbkörpers in Mens I - III, die nicht zum Abort führten. Andere Autoren halten dagegen bei Exstirpation des Corpus luteum graviditatis in der frühen Gravidität eine prae- und postoperative Substitutionstherapie zur Fortführung der Schwangerschaft für unerläßlich (SIMON, HERRMANN, MATTER). Ein weiterer Hinweis für die Bedeutung des Corpus luteum graviditatis für die junge Schwangerschaft mag die Meinung von FUNALLET sein, daß die "Corpus luteum-Schwäche" als Ursache wiederholter Fehlgeburten anzusehen sei. Sie sei durch eine Substitutionstherapie zu beheben. Nach HEGNAUER müßte diese Ansicht revidiert werden.

Nach Schwangerschaftsunterbrechung im 2. Monat sinkt die Pregnandiolausscheidung erst innerhalb von drei Tagen auf Normalwerte der Nichtschwangeren, wie ANDREOLI (1954) angibt. Der Autor vermutet, daß dabei der Choriongonadotropinausfall das Corpus luteum graviditatis funktionslos werden läßt. Es liegt also bis zu diesem Zeitpunkt eine aktive Progesteronproduktion im Corpus luteum graviditatis vor.

Der Temperaturanstieg infolge des thermogenetischen Effekts des Progesterons aus dem Corpus luteum dauert in der Schwangerschaft bis Mens III (TONUTTI). Das kann ein Hinweis darauf sein, daß zu dieser Zeit die Progesteronbildung im Corpus luteum aufhört, was mit der morphologischen Involution des Organs zusammenfiele. Auffallend ist, daß das Progesteron der Placenta einen entsprechenden temperaturerhöhenden Effekt nicht hervorruft.

Zur oestrogenen Funktion des Corpus luteum graviditatis bei Extrauteringravidität wies M. FURUJEHN (1954) im biologischen Testverfahren nach ALLEN-DOISY, bei dem Corpus luteum-Hüllen und Inhalt in 0,01 n NaOH gelöst und nach 12 Stunden kastrierten weiblichen Mäusen injiziert werden, an Abstrichen des Vaginalepithels nach 24, 36 und 48 Stunden bei 6 und 7 Wochen alten Corpora lutea von Extrauteringraviditäten eine positive Reaktion nach.

In der vorliegenden Arbeit interessiert neben Ätiologie, Symptomatik und Klinik der Extrauteringravidität besonders die Histochemie des Corpus luteum graviditatis: die alkalische Phosphatase und die PAS-positiven Substanzen. Deshalb wird hier nur auf einige Erscheinungsbilder der Schwangerschaft eingegangen, die grobe Rückschlüsse auf die chemischen und besonders die hormonalen Funktionen zulassen.

Die typischen Schwangerschaftsveränderungen wie Amenorrhoe, Schwellung der Brüste, Übelkeit, morgendliches Erbrechen, Lividität von Portio und Vagina, Vergrößerung des Uterus, deciduale Schleimhautumwandlung, OPITZsche Schwangerschaftsdrüsen, allgemeine Auflockerung des Bindegewebes treten auf, sind aber im allgemeinen schwächer und verzögert gegenüber einer intrauterinen Gravidität. Grundsätzlich also muß sich der Hormonhaushalt im Sinne einer Schwangerschaft verhalten.

HASELHORST berichtet über die Ergebnisse der biologischen Schwangerschaftsteste folgendes: Die ASCHHEIM-ZONDEK-Reaktion und der Frosch- bzw. Krötentest fallen positiv, jedoch schwächer als zu er-

warten aus; sie können sogar negativ bleiben. Nach HIRSCH-HOFFMANN, GRANZOW, KLINKENBERG, LOSEREIT ist die Reaktion in 50 - 70 % der Fälle positiv. Ähnlich geben ŠIKL und JALUOKA (1958) einen positiven Ausfall des biologischen Schwangerschaftstestes mit 55,7 % bei ihrem Krankengut von 68 Patientinnen an.

Bei Untersuchungen des Endometriums wurde von SCHULTZE (1952), BOBECK (1957), CASTRO (1958) und ŠIKL und JALUOKA (1958) eine deciduale Umwandlung bei 40 - 70 % der Fälle gefunden. Auch aus dieser Schwankungsbreite geht die Uneinheitlichkeit der Reaktion des weiblichen Körpers auf eine Nidation des befruchteten Eies in der Tube hervor. Bleibt die Tubargravidität länger erhalten, erfolgt nach HASELHORST eine deciduale Umwandlung, "aber in unberechenbarer Weise hinsichtlich Lokalisation und Ausbreitung". Auf Grund gleicher Ergebnisse mit stark unterschiedlichen histologischen Bildern mißt NIEDZINSKA-CERWINSKA dieser Untersuchung nur sehr eingeschränkten diagnostischen Wert bei und weist auf die Zahl der postoperativen Komplikationen infolge einer vorausgegangenen Curettage hin (1957).

Bezüglich der Uterusschleimhautveränderung stellt DAL COLLO die Notwendigkeit der Anwesenheit von Corpus luteum-Hormon zur decidualen Umwandlung in Frage. Er zeigt mit Versuchen an Hündinnen, daß die Mucosa uteri auf die Inplantation von Holundermark wie auf die Inplantation von Eierstockgewebe mit einer Hypertrophie und decidualen Umwandlung reagiert.

Der Wert von cytohormonalen Abstrichergebnissen ist gering, sodaß er von BIELECKI und URBANOWICZ (1959) lediglich als diagnostische Hilfsmethode empfohlen wird, da es kein spezifisches cytologisches Bild für eine ektopische Schwangerschaft gibt.

Die Anwesenheit von chorealem Gewebe ist für das Auftreten von atypischen Endometriumdrüsen verantwortlich. Sie wurden zuerst 1954 von ARIAS STELLA beschrieben. Diese Beobachtung wird von BERTHELSEN (1957) und FREDERIKSEN (1959) bestätigt. Es handelt sich um herdförmig auftretende Endometriumveränderungen mit Hyperplasie,

vielen Mitosen, großen hyperchromatischen Kernen, die in veränderter Stellung in der Zelle liegen. Diese Reaktion tritt sowohl bei intra- als auch bei extrauteriner Gravidität auf.

Die PAS-Reaktion am Endometrium ergibt nach CRAMER und KLÖSS (1955) Sicherheit über den Zustand nach Frühabort oder Extrauteringravidität, da in beiden Fällen die Glykogenproduktion und Sekretion verstärkt sind, die ohne Schwangerschaft bereits 3 - 4 Tage vor der Menstruation schwinden.

## II. Die Chemie und Histochemie des Corpus luteum

### 1. Fette und Lipoide, Ascorbinsäure, Plasmalogen, PAS-positive Substanzen

Die chemische und histochemische Untersuchung des Corpus luteum hat bisher zu folgenden Ergebnissen geführt:

Bei der Prüfung des Fettgehaltes und der Fettarten stellte VON MICULICZ-RADECKI in der Luteinschicht des Corpus luteum graviditatis der ersten 4-5 Schwangerschaftsmonate, also während der Zeit seiner angenommenen Hochfunktion, ein Gemisch von Cerebrosiden, Phosphatiden, Cholesterinverbindungen und phosphorhaltigen Lipoiden fest. Alle diese Stoffe sind doppelbrechend und gehören zu den Lipoiden. TONUTTI beschreibt die Fette der Granulosaluteinschicht des Corpus luteum als komplizierte Gemische von Lipoiden, wovon Cholesterin und Cholesterinester die wichtigsten sind. VON MICULICZ-RADECKI vermutete, daß sie als Inkret des blühenden Gelbkörpers anzusehen sind. Bestätigend fand EVERETT, daß der Cholesteringehalt der Funktion des Corpus luteum parallel läuft. Diese Lipoide lassen sich mit der Fettfärbung mit SUDAN III nicht nachweisen. Nach MEYER, MILLER,

NOVAK ist das darauf zurückzuführen, daß es sich nicht um Neutralfette handele. WICZYNSKI weist auf die Bindung der Lipoide an eine eiweißartige Substanz hin. DEMPSEY und BASSETT erhielten mit Lipoiden eine positive Carbonylreaktion. In der Mitte der Gravidität und später werden Neutralfette, Fettsäuren und Seifen in großer Menge nachweisbar (MARCOTTY, MILLER, NOVAK). Dieser Vorgang geht der Degeneration des Corpus luteum parallel und kann wohl als Ausdruck der Regression der Zellen gewertet werden.

Der Farbstoff, der die Luteinschicht gelblich erscheinen läßt und den WALLART zuerst bei trächtigen Kühen fand, gehört in die Gruppe der Lipochrome wie Carotin und Xantophyll.

Weitere histochemische Befunde des Corpus luteum liegen über die Ascorbinsäurebeladung vor, die sofort nach dem Follikelsprung bei Beginn der Bildung der Granulosaluteinschicht einsetzt (TONUTTI, MATZNER) und deren Ausmaß titrimetrisch zu erfassen ist (GLICK und Mitarbeiter).

In der Thekaluteinschicht wies BECHER viel Plasmalogen nach.

PAS-positive Substanzen - Mucopolysaccharide, Glycomucoproteide, Glykolipoide, Lipoproteide - treten nach LECKIE (1954) in den Granulosaluteinzellen des reifen Follikels auf. Im Corpus luteum sind sie reichlich als Granula und Globula nachzuweisen. Während der Gravidität wird ein Anstieg der PAS-positiven Substanzen im Corpus luteum beobachtet. BALBONI weist bei gleichen Befunden auf einen Zusammenhang mit der sekretorischen Tätigkeit der Zellen hin.

## 2. Enzymologie des Corpus luteum

Ziel der Histochemie ist es, die Lokalisation von spezifischen Substanzen mittels chemischer Nachweismethoden optisch wahrnehmbar zu machen und zu klären. Der Nachweis von Fermenten gibt darüberhinaus Aufschluß über die Vorgänge, die das Ferment enzymatisch zu katalysieren hat und läßt somit einen Schluß auf bestimmte Stoffwechselvorgänge im Gewebe zu.

Auf dem Gebiete der Enzymhistochemie liegen Arbeiten über folgende Fermente im Ovar vor: Dehydrogenasen, Phosphatasen, Carboxylsäure-Esterasen, Oxydasen, Glycosidasen und Carboanhydrase. Zum allergrößten Teil handelt es sich hierbei um Untersuchungen am tierischen Ovar.

a) Verschiedene Enzyme

Als Überblick über die histochemischen Reaktionen am Corpus luteum bzw. an den dieses Organ bildenden Schichten - Theka und Granulosa - sind folgende Beiträge aus der Literatur zu erwähnen:

Im Mäuseovar besteht in den Thekazellen und der Granulosa eine Aktivität an Succinodehydrogenase (BERNSTORF 1959). Zur Zeit der Reife tritt saure Phosphatase in den Thekazellen auf (DELSOL, CHAUX 1954). In den Zellen des Corpus luteum graviditatis und in atretischen Follikeln findet sich Butyrylthiocholinesterase. Das gleiche gilt übrigens für das Corpus luteum graviditatis und die atretischen Follikel des Meerschweinchens, darüberhinaus aber auch für dessen Theka interna, die stark, und für dessen Theka externa, die schwächer aktiv ist (GRIETEN 1955).

Im Corpus luteum des Rattenovars fand GOMORI 1945 eine hone Tweenesterase-Aktivität. In den Luteinzellen, weniger in Granulosa und Theka, wurde von SELIGMAN (1954), FISHMAN und BAKER (1956) beta-Glucuronidase nachgewiesen. In den Lutein- und Granulosazellen konnten PADYKULA (1952), MEYER und McSHAN (1953), FORAKER und Mitarbeiter (1953 Succinodehydrogenase nachweisen, ein Ergebnis, zu dem PADYKULA übrigens auch für Mensch und Kaninchen kam. Die Granulosazellen weisen Acetylnaphtholesterase (CHESSICK 1953), AS-Naphtholesterase (CHESSIK 1953) auf, die beide bei Mensch und Maus fehlen (CHESSIK 1953, MALTY, BOURNE 1954), ferner Butyratnaphtholesterase, die sich auch in der Theka findet (HUNTER, KNEISKE 1957).

Im Kaninchenovar liegt in den Luteinzellen besonders während der Schwangerschaft eine hohe Konzentration von Amylo-1,4-1,6-transgluco-

sidase vor, die in geringerem Maße auch in Primärfollikeln und im Follikelepithel des reifenden Follikels zu finden ist (TAKEUCHI 1958). Die Succinodehydrogenase ist im Corpus luteum stark, in den Granulosazellen immerhin deutlich vertreten (ARVY 1959). Die eingehenden Untersuchungen dieser Autorin ergaben ferner: Die Nadi-Oxydase fehlt im Corpus luteum und in der Theka externa, ist schwach in der Theka interna und stärker in der Granulosa enthalten. Histamin-Oxydase fehlt im Gelbkörper, die Follikel weisen einen schwachen Gehalt an diesem Ferment auf. Die Carboanhydrase liegt stets in den Follikelzellen und den Gefäßen der Theka interna. Die Acetylnaphtholesterase und die Acetylhiocholinesterase sind beide im Corpus luteum menstruationis und außerordentlich stark im Corpus luteum graviditatis nachweisbar. Das gleiche gilt für die saure Phosphatase in den Corpora lutea menstruationis und graviditatis; außerdem findet sich dieses Ferment in geringem Maß in den Follikeln und sehr deutlich in der Granulosa. Eine weitere Phosphatase, die 5-Nucleotidase, ist in den Thekagefäßen und in den Gefäßen der Gelbkörper nachweisbar. TAKEUCHI und NOGAMI stellten 1954 in den Follikeln und Gelbkörpern 5-Ribonucleotidase sowie Riboflavin-Nucleotidase fest.

Im Hundeovar fand sich Succinodehydrogenase in großer Menge in den Thekazellen und in geringerer Menge in den Gelbkörpern (NACHLAS und Mitarbeiter 1957).

Für den ganzen weiblichen Genitaltrakt des Menschen untersuchten NEUMANN und Mitarbeiter 1954 den Gehalt an Phosphoamidase. Die Luteinzellen wie auch die Primärfollikel zeigten eine positive Enzymreaktion.

Bei den niederen Vertebraten wies ARVY 1954 und 1957 saure Phosphatase im Follikelepithel nach. Das gleiche Ferment fand YAO 1950 in den Follikelzellen der Drosophila melanogaster.

b) Die bisherigen Befunde über die alkalische Phosphatase im reifenden Follikel und im Corpus luteum

Durch die Schwierigkeiten der Beschaffung menschlicher Ovarien bzw. Corpora lutea sind die Verhältnisse der alkalischen Phosphatase in viel größerem Umfang an Säugetierorganen untersucht. Schwein, Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Rhesusaffe, Rind, Hamster, Ratte, Maus, Fledermaus und Schaf wurden von GOMORI (1941), CORNER (1944), WIMSATT (1949), DEANE (1952), MOOG, WENGER (1952), AUGUSTIN, HEIDENREICH, THILO (1954), MOSS, WRENN, SYKES (1954), FORD, HIRSCHMANN (1955), KNIGGE, LEATHEM (1956), HADEK (1958) und ARVY (1959) geprüft. Über den Nachweis des Enzyms am menschlichen Ovar berichten CORNER (1944), OBER (1950), GENESI (1953) ALAMANI, MANGIONE, DHOM, MENDE (1956), MC KAY, PINKERTON, HERTIG, DANZIGER (1961).

Im Jahre 1944 schreibt CORNER: "GOMORI machte auf die großen Unterschiede in der Verteilung der Phosphatase im Ovar der Säugetiere aufmerksam". Er führte die 1941 von GOMORI begonnenen Untersuchungen unter Auswertung der Ovarien von Schwein, Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Rhesusaffe und Mensch 1944 fort. Er wies im reifen Follikel von Schwein und Hund eine starke Reaktion in der Theka interna nach, während sie in den Granulosazellen negativ ausfiel. Am reifen Follikel des Kaninchens stellte er umgekehrt eine starke Phosphatasekonzentration in der Granulosa und keine in der Theka interna fest. Bis zu 5 Tage alte Corpora lutea enthielten das Enzym; GOMORI hatte nur in den Gefäßendothelzellen der Corpora lutea - allerdings ohne Altersangabe - das Ferment nachweisen können. Beim Meerschweinchen lag im reifenden Follikel viel Phosphatase in der Theka interna und wenig in der Granulosa vor. Vom Rhesusaffen wurde ein 24 Stunden vorher frisch gesprungener Follikel untersucht, der in Theka interna und Granulosa eine starke Phosphatasekonzentration zeigte. An menschlichen Corpora lutea graviditatis fand CORNER bei einem 1 Tag alten Organ das Enzym in der Granulosa nicht, wohl aber in der Theka interna; ein

5 Tage altes und ein 8 Tage altes Organ blieben dagegen reaktionslos. Alle Färbungen waren nach GOMORIs Methode durchgeführt.

WIMSATT wies 1949 die alkalische Phosphatase in den Kapillaren der Corpora lutea von Fledermäusen nach. Ferner fand er eine positive Reaktion in der Zona pellucida bei Myotis lucifugus (nordamerikanische Species), während die Reaktion in der Zona pellucida bei anderen Arten von Fledermäusen negativ blieb.

Die Untersuchungen über die alkalische Phosphatase im menschlichen Ovar von OBER führten 1950 zu folgenden Ergebnissen: Während der Follikelreifung wird das Ferment nur im Bereich der Theka interna und hier am stärksten in den Gefäßen und zwischen den Zellen gefunden; die Granulosa ist frei. Beim Corpus luteum graviditatis kommt das Ferment mit den Gefäßen und Fibroblasten zwischen den noch nicht fertig ausgebildeten Granulosaluteinzellen vor. Dort bleibt es je nach Funktionszustand in verschiedenem Maße nachweisbar. Setzt die Rückbildung ein, wird die Fermentreaktion stärker als zur Zeit der höchsten Funktion. Zellen in Autolyse reagieren besonders stark, wie Präparate bei gestörter Extrauteringravidität zeigen. Am Ende einer Gravidität findet sich die Fermentreaktion am stärksten in den Granulosaluteinzellen. Die Theka interna-Zellen verlieren das Enzym wenige Tage nach dem Follikelsprung.

Eine positive Reaktion hinsichtlich alkalischer Phosphatase in den Kapillaren von Corpora lutea der Maus wurde 1952 von MOOG und WENGER beschrieben. Ferner wird eine an Fasern gebundene positive Reaktion in der Theka und in Corpora lutea bei der Maus und beim Hamster angegeben. Während im atretischen Follikel der Gehalt an Phosphor abnimmt, steigt die Intensität der Phosphatase Reaktion.

GENESI ermittelte 1953 am menschlichen Ovar mit der GOMORI-Methode eine Aktivität der alkalischen Phosphatase in den Kapillaren und der Arterienintima des gesamten weiblichen Genitale, außerdem im Follikel, und zwar in der Theka interna und externa und in der Granulosa, sowie auch in den Zellkernen des Stromas und im Corpus luteum.

1956 bearbeiteten ALAMANI und MANGIONE die Frage nach alkalischer Phosphatase im menschlichen Ovar zur Beurteilung der endokrinen Struktur des Organs und ihrer Beziehung zu dessen Entwicklung. Es ergab sich eine positive Nachweisreaktion in der Theka interna des reifenden Follikels, wobei Schwankungen des Fermentgehaltes in den Kernen und im Protoplasma deutlich waren. Das junge Corpus luteum menstruationis enthält in der luteinisierten Granulosa cytoplasmatische alkalische Phosphatase. Mit der Rückbildung des Corpus luteum nimmt auch der Enzymgehalt ab.

1956 fanden DHOM und MENDE eine Aktivität an alkalischer Phosphatase in den Hiluszellen menschlicher Ovarien. Die Intensität der Reaktion stand in umgekehrtem Verhältnis zum Lipoidgehalt dieser Zellen. Die Autoren vermuten eine Beziehung zu den Schwankungen in der Hormonproduktion.

DEANE (1952), AUGUSTIN, HEIDENREICH, THILO (1954), FORD, HIRSCHMANN (1955) untersuchten die alkalische Phosphatase im Rattenovar mit verschiedenen Methoden - nach GOMORI, mit Hilfe von Nucleinsäure, mit Fructosediphosphat, mit Glycerophosphat und mit Nitrophenolphosphat. Übereinstimmend wird die alkalische Phosphatase in den Kapillarendothelien vor allem der Theka interna nachgewiesen. Die Corpora lutea zeigen eine Aktivität an alkalischer Phosphatase, durch deren unterschiedliche Deutlichkeit sich verschiedene Corpus luteum-Generationen differenzieren lassen (AUGUSTIN und Mitarbeiter). Mit zunehmendem Alter und mit Vergrößerung der Eierstöcke wird die Konzentration an alkalischer Phosphatase geringer (FORD, HIRSCHMANN).

1954 führten MOSS, WRENN, SYKES verschiedene histochemische Untersuchungen am Rinderovar durch. Für den Gehalt an alkalischer P osphatase ergab sich auch hier die Möglichkeit einer Differenzierung der verschiedenen Corpus luteum- und Follikel-Phasen. Es werden detaillierte Angaben über den Wechsel des Fermentgehaltes im Theka interna- und Granulosa-Gewebe während der verschiedenen

Stadien von Follikel und Corpus luteum menstruationis gemacht.

KNIGGE und LEATHEM untersuchten 1956 das Corpus luteum des Hamsterovars u. a. auf den Gehalt von alkalischer Phosphatase und fanden in den Granulosazellen eine deutliche Aktivität des Ferments.

HADEK fand 1958 im Schafovar in der Theka interna reifender Follikel - in einigen Fällen auch in deren unmittelbarer Umgebung in der Theka externa und der Granulosa - Aktivität an alkalischer Phosphatase. Am 10. Tag nach der Ovulation läßt sich das Ferment in den Granulosaluteinzellen nachweisen; diese Aktivität besteht nur 2 bis 3 Tage und schwindet dann allmählich.

1959 veröffentlichte ARVY Befunde am Kaninchenovar. Es wurde nach der von LILLIE modifizierten GOMORI-Methode gearbeitet. Es fand sich eine an alkalischer Phosphatase reiche Granulosa des Follikels, und auch die Gelbkörper - sowohl die cyklischen wie die graviden - zeigten eine intensive Aktivität, die streng an das Luteingewebe gebunden war.

Die Untersuchungen von MC KAY, PINKERTON, HERTIG, DANZIGER (1961) ergaben, daß im menschlichen Ovar die alkalische Phosphatase im reifenden Follikel zunächst nur in der Theka und in den Gefäßen auftritt. Beim Corpus luteum menstruationis ist die alkalische Phosphatase bis um den 18. Tag nur in der Theka, später auch in der Granulosa nachweisbar. Im Corpus luteum graviditatis lag das Ferment in Theka- und Granulosaluteinzellen vor. Die Autoren weisen auf einen möglichen Zusammenhang mit der Steroidhormonsynthese hin.

## III. Eigene Untersuchungen

### 1. Klinische Befunde - Anamnese und Klinik der untersuchten Fälle

Es wurden die Corpora lutea graviditatis Mens I - III von 10 Patientinnen mit Extrauteringravidität und vergleichsweise die von 5 Patientinnen, bei denen eine Interruption einer intakten Intrauteringravidität vorgenommen worden war, auf den Gehalt an alkalischer Phosphatase und an PAS-positiven Substanzen untersucht.

Im Rahmen dieser Arbeit wird man sich auf die Beschreibung der klinischen Befunde beschränken, die für die spätere Auswertung von Bedeutung sind. Das sind vor allem die Daten, die einen Anhalt für die Dauer der Schwangerschaft und für die Funktionstüchtigkeit des Corpus luteum graviditatis geben können: Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen, errechneten Konzeptionstermin post menstruationem einmal bis zur Operation und zum anderen bis zum Beginn der Dauerblutung mit oder ohne Unterleibsschmerzen, dem wahrscheinlichen Termin des Absterbens der Frucht. Weitere Hinweise geben Angaben über Deciduaabgang während der genitalen Blutung, Abrasiobefunde und eventuelle Fet- und Fruchtsackbefunde, die bei der Operation oder der histologischen Untersuchung erhoben werden konnten. Weiter interessiert auch das zeitliche Intervall vom Blutungs- und Schmerzbeginn bis zur Operation.

#### a) Tubargraviditäten

Fall 1:

Die Patientin ist 29 Jahre. Die Periode von 30-32/4-5 Tagen ist regelmäßig, normal stark, mit starker primärer Dysmenorrhoe.

1960 trat die erste Schwangerschaft ein, die im Juli 1960 zum Abortus Mens II führte. Es wurde wegen angeblicher starker Entzündung keine Nachräumung vorgenommen.

Jetzige Anamnese: Die letzte Periode wird am 18.11.1960 angegeben. Am 9.12.1960 setzt eine leichte Schmierblutung ein, die sich

am 18.12.1960 verstärkt und jetzt von krampfartigen Leibschmerzen und Erbrechen begleitet wird. Die Blutung hält an, am 3.1.1961 wird die Patientin in die Klinik eingeliefert.

Gynäkologischer Befund: Portio und Uterus sind relativ derb. Rechts hinter dem Uterus ist eine bleistiftdicke, etwas succulente, druckschmerzhafte Resistenz tastbar. Die Douglaspunktion ergibt dunkles Blut.

Operation: Am 4.1.1961 erfolgt die Resektion der rechten Tube bei Tubargravidität rechts.

Pathologischer Befund: Das Präparat ist eine daumendick aufgetriebene dünnwandige Tube. Sie enthält Blutgerinnsel und einen leeren erbsengroßen Fruchtsack.
Mikroskopisch finden sich zahlreiche jugendliche gefäßlose Zotten mit etwas verquollenem Stroma.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 47 Tage.
Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tag der Operation ist die Zeit vom 4.12.1960 - 4.1.1961, das sind 31 Tage.
Die Blutung setzte am 5., die Schmerzen setzten am 14. Tag der Schwangerschaft ein. Daraus kann man mit Wahrscheinlichkeit schließen, daß die Gravidität bereits seit 26 Tagen, vom Beginn der Blutung, bzw. seit 17 Tagen, vom Einsetzen der krampfhaften Schmerzen, gestört gewesen sein mag. Die Größe des Fruchtsackes deutet mehr auf eine 14-tägige Gravidität als auf eine Störung bereits am 5. Schwangerschaftstag.

Fall 2:
Es handelt sich um eine 28jährige Patientin mit regelmäßiger Periode von 28/6-9 Tagen. Sie gibt eine sekundäre Dysmenorrhoe an.
1952 und 1956 hat die Patientin spontan entbunden. 1954 wurde eine Abrasio bei fraglichem Abort vorgenommen. 1960 erfolgte eine vaginale

seit Januar 1961 angegeben.

angegeben.

schmerzhaft ist.

Operation: Am 20.6.1961 wird die Exstirpation der distalen Tubenhälfte bei Tubargravidität rechts vorgenommen.

Pathologischer Befund: Im distalen Tubenteil findet sich eine pflaumengroße Auftreibung, in der Placentagewebe liegt.
Mikroskopisch sind Zotten vorhanden, die teilweise hyalinisiert, teils nekrotisch, teils aber auch regelrecht gestaltet sind.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 65 Tage.
Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 10.4. - 20.6.1961, das sind 71 Tage. Die ersten Schmerzen setzen am 10. verstärkte Schmerzen am 40. Schwangerschaftstag ein, das sind 25 bzw. 11 Tage vor der Operation. Die Blutung trat am 61. Tag der Schwangerschaft, also 10 Tage vor der Operation auf. Der Abgang eines Klumpens bei der Blutung wird am 48. Schwangerschaftstag angegeben, d.h. 3 Tage vor der Operation.

Fall 3:

Die Patientin ist 35 Jahre alt. Die Periode ist regelmäßig und beschwerdefrei 28/6-7 Tage. In den Jahren 1947 - 1959 werden 6 spontane Geburten angegeben.

Jetzige Anamnese: Am 1.10.1960 war die letzte Periode. Es kam am 2.11.1960 zur Blutung mit anfallsweise auftretenden ziehenden Schmerzen im rechten Unterbauch. Die Patientin wurde am 8.11.1960 mit Verdacht auf Abort in ein Krankenhaus eingeliefert. Die am 15.11.1960 vorgenommene Ausschabung ergab keinen Verdacht auf eine Gravidität. Der biologische Schwangerschaftstest soll jedoch positiv ausgefallen sein. Nach 3 - 4 blutungsfreien Tagen erfolgte am 20.11.1960 die Entlassung. Am 24.11.1960 setzte eine bis zur Operation anhaltende, wiederum mit ziehenden Schmerzen im rechten Unterbauch einhergehende Schmierblutung ein. Am 3.12.1960 erfolgte die Einweisung in die Klinik.

Gynäkologischer Befund: Portio und Vagina sind andeutungsweise livide. Portio und Uterus sind derb. Rechts neben und hinter dem Uterus liegt ein frauenfaustgroßer Tumor.

Operation: Am 5.12.1960 wird die Salpingo-Oophorektomie rechts wegen Tubarabort bei beginnender Ausstoßung vorgenommen. Die peritubare Haematocele saß dem Ovar auf.

Pathologischer Befund: Es liegt eine Tube mit daumendicker Auftreibung im distalen Abschnitt und ein anliegendes kastaniengroßes Ovar vor.
Mikroskopisch zeigt die Tube eine sekretorische Schleimhaut mit decidualer Umwandlung. Es finden sich vereinzelte Placentazotten.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 65 Tage.
Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zur Operation ist die Zeit vom 15.10.1960 - 5.12.1960, das sind 51 Tage.

Die erste Blutung begann gemeinsam mit den Schmerzen am 18. Tag der Gravidität, d.h. 33 Tage vor der Operation. Die zweite Blutung trat wiederum zugleich mit den Schmerzen am 40. Schwangerschaftstag, 11 Tage vor der Operation, auf.

Fall 4:

Die 21-jährige Patientin gibt eine regelmäßige Periode mit 28/6-7 Tagen an. Sie war bisher nicht schwanger.

Jetzige Anamnese: Die letzte Periode dauerte vom 17. - 20.12. 1960. Es wird eine Schmierblutung vom 22. - 26.2.1961 und seit 13.3. 1961 eine Dauerblutung mit ziehenden, kneifenden Schmerzen im Unterleib angegeben. Die Patientin fühlte sich nicht schwanger.

Gynäkologischer Befund: Scheide und Portio sind angedeutet livide. Der Uterus ist aufgelockert, das Hegarsche Zeichen I und die Colostrumuntersuchung sind positiv. Die linken Adnexe bilden in ihrem distalen Abschnitt hinter dem Uterus einen walnußgroßen, wenig beweglichen, druckempfindlichen Tumor.

Operation: Am 4.4.1961 wird die Resektion der linken Tube wegen eines Tubaraborts vorgenommen.

Pathologischer Befund: Die Tube ist im ampullären Teil kastaniengroß aufgetrieben. Im Inneren der Tube findet sich ein schwarzbraunes Gerinnsel mit mikroskopisch nur noch schattenhaft erkennbaren nekrotischen Placentazotten.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 108 Tage.
Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 31.12.1960 - 4.4.1961, das sind 94 Tage. Der Beginn der ersten Blutung liegt 41 Tage vor der Operation, sie besteht seit dem 53. Tag der Gravidität. Die zweite Blutung setzte am 72. Schwangerschaftstag, d.h. 22 Tage vor der Operation ein.

Fall 5:

Die 28-jährige Patientin gibt eine mittelstarke Periode von 28/3 Tagen an. Von 4 Schwangerschaften wurden 2 in den Jahren 1951 und 1957 ausgetragen, eine führte 1958 zum Frühabort und die vierte 1960 zum Abortus incompletus Mens II. 1957 war die Patientin wegen Cyklusstörung in ambulanter Behandlung.

Jetzige Anamnese: Als letzte Periode wird eine Blutung vom 1. - 7.10.1960 angegeben. Im September 1960 sei keine Blutung aufgetreten. Davor habe die Patientin irgendwann im August geblutet. Da bereits am 6.10.1960 der Abgang von Decidua in Form eines Gewebssäckchens beschrieben wird, mag die tatsächliche letzte Periode Mitte August 1960 angenommen werden. Angaben über morgendliche Übelkeit, Erbrechen und Spannen der Brüste im September 1960 stützen diese Annahme. Nach einer fiebrigen Cystopyelitis seit dem 22.9.1960 trat dann die oben erwähnte Blutung vom 1. - 7.10.1960 mit Abgang von Decidua am 6.10.1960 ein. Am 14.10.1960, dem Tage der Einlieferung, setzten plötzlich heftiges Erbrechen, Ohnmachtsneigung und krampfartige Schmerzen im rechten Unterbauch ein.

Gynäkologischer Befund: Cervix und Uterus sind derb. Rechts vom Uterus fühlt man eine verschiebliche, kaum abgrenzbare Resistenz. Die Douglaspunktion ergibt frisches Blut.

Operation: Am 14.10.1960 erfolgt die Teilresektion der rechten Tube wegen Tubaraborts.

Pathologischer Befund: Das Tubenende ist pflaumengroß aufgetrieben.
Mikroskopisch zeigt die Tubenschleimhaut ein Zylinderepithel mit fortgeschrittener Sekretion und an zwei umschriebenen Stellen eine oberflächliche Graviditätsdecidua.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 60 Tage.

Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 29.8.1960 - 14.10.1960, das sind 46 Tage. Die Blutung setzte am 33. Schwangerschaftstag, 13 Tage vor der Operation ein. Der Deciduaabgang geschah am 38. Schwangerschaftstag, d.h. 8 Tage vor der Operation.

Fall 6:

Die Patientin ist 37 Jahre alt. Die Periode ist 28/2-3 Tage, regelmäßig, normal stark und ohne Schmerzen. Von 3 Schwangerschaften wurden 2 in den Jahren 1952 und 1958 ausgetragen. 1959 kam es zur extrauterinen Gravidität links.

Jetzige Anamnese: Die letzte Periode war am 14.12.1960. Am 14.1.1961 setzte eine leichte Blutung ein; hinzu kamen krampfartige Unterleibsschmerzen rechts seit dem 20.1.1961, die um den 22.1.1961 wieder zurückgingen. Am 23.1.1961, dem Tage der Einlieferung, traten Übelkeit, Brechreiz, Schwindelgefühl und starke Müdigkeit auf.

Gynäkologischer Befund: Rechts neben dem Uterus wird ein billardkugelgroßer Konglomerattumor getastet. Bei starker Douglasvorwölbung gewinnt man bei der Punktion sofort reichlich altes Blut.

Operation: Am 23.1.1961 erfolgt die Resektion der rechten Tube wegen Tubaraborts.

Pathologischer Befund: Es handelt sich um eine im distalen Ende pflaumengroß aufgetriebene Tube mit verklebten Fimbrien. Mikroskopisch findet sich auf der Schnittfläche ein Blutkoagel mit Chorionzotten, deren Stroma leicht verquollen ist.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 40 Tage.

Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 28.12.1960 - 23.1.1961, das sind 26 Tage. 9 Tage vor der Operation, am 17. Schwangerschafts-

tag begann die Blutung. Die Schmerzen traten am 23. Schwangerschaftstag, das sind 3 Tage vor der Operation, auf.

Fall 7:

Die 29-jährige Patientin gibt eine Periode von 28/3 Tagen mit Bauch- und Kreuzschmerzen am ersten Tag an. Sie hat 1958 geboren. 1956 wurde die Patientin stationär wegen Dauerblutung aufgenommen und abradiert.

Jetzige Anamnese: Die letzte Periode dauerte vom 1. - 4.2. 1961. Am 11.2.1961 setzte eine tropfenweise Blutung ein, die bis ca. 21.2.1961 anhielt. Dieses Datum läßt auf eine Konzeption ante menstruationem schließen. Am 4.3.1961 wurde die Blutung stärker, besonders bei Anstrengungen, wobei auch krampfartige Schmerzen in der rechten Leiste zum Kreuzbein ausstrahlend auftraten. Seit 6.4.1961 werden starke Schmerzen im ganzen Unterleib geschildert. Die Patientin fühlte sich nicht schwanger.

Gynäkologischer Befund: Vagina und Portio sind gering livide. Rechts neben dem Uterus liegt ein etwa zweimal daumendicker, schwer abzugrenzender, sehr druckempfindlicher Tumor. Die Douglaspunktion ergibt flüssiges Blut.

Operation: Am 10.4.1961 kommt es zur Adnexexstirpation rechts bei Tubarruptur.

Pathologischer Befund: Die Tube ist pflaumendick aufgetrieben und zeigt mikroskopisch ein hohes sezernierendes Zylinderepithel und stellenweise Graviditätsdecidua.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 96 Tage.
Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 18.1.1961 - 10.4.1961, das sind 82 Tage. Am 24. Tag der Schwangerschaft beginnt die tropfenweise

Blutung, das sind 58 Tage vor der Operation. Am 45. Schwangerschaftstag, d.h. 37 Tage vor der Operation, treten Schmerz und eine starke Blutung auf.

Fall 8:

Es handelt sich um eine 26-jährige Patientin mit regelmäßiger Periode von 28-30/4 Tagen. Sie hatte bisher keine Schwangerschaft.

Jetzige Anamnese: Die letzte Periode wird vom 6. - 8.4.1961 angegeben. Sie trat 4 Tage zu früh auf; die Patientin war verreist. Am 22.5.1961 traten leichte, dem Periodenschmerz ähnliche Schmerzen und gleichzeitig eine schwache Blutung auf. Es wurde der Abgang eines nichtblutigen Hautfetzens beobachtet. Am 24.5.1961 verstärkten sich die Schmerzen sehr. Die Patientin wurde in die Klinik eingeliefert. An subjektiven Schwangerschaftszeichen wurden eine hin und wieder auftretende morgendliche Übelkeit und Spannen der Brüste angegeben.

Gynäkologischer Befund: Die Scheide ist aufgelockert und livide. Die Portio und der enteneigroße, gravide aufgelockerte Uterus sind nach links verdrängt. Rechts im Douglasschen Raum sind die hühnereigroßen Adnexe als schmerzhafte Resistenz zu tasten. Der Douglassche Raum ist vorgewölbt; die Punktion ergibt geronnenes Blut.

Operation: Am 24.5.1961 erfolgt die Exstirpation des distalen Tubendrittels rechts wegen einer Tubargravidität.

Pathologischer Befund: Der walnußgroß aufgetriebene Tubenanteil weist mikroskopisch ein Zylinderepithel mit fortgeschrittener Sekretion und eine deciduale Umwandlung auf.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 48 Tage.
Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 21.4.1961 - 24.5.1961, das sind 33 Tage. Die Blutung und leichte Schmerzen setzten am 31. Schwan-

gerschaftstag, das sind 2 Tage vor der Operation, ein. Am Tage der Operation, dem 33. Schwangerschaftstag, verstärkten sich die Schmerzen sehr.

Fall 9:

Die Patientin ist 19 Jahre alt. Ihre Periode ist regelmäßig 26-30/5-6 Tage und stark. Es wird ein Spontanpartus 1960 angegeben. 1959 war die Patientin wegen Fluors in Behandlung.

Jetzige Anamnese: Die Patientin gibt die letzte regelrechte Periode am 5.6.1961 an. Am 10.7.1961 sei es zu einer regelähnlichen, aber schwächeren 5-tägigen Blutung gekommen. Am 29.7.1961 trat eine Sickerblutung auf, die sich rasch verstärkte. Es gingen große schwarze Blutklumpen ab. Am 31.7.1961 werden heftige stechende Schmerzen, die durch den ganzen Unterleib ziehen, angegeben. Am 1.8.1961 erfolgte die Einlieferung in die Klinik.

Gynäkologischer Befund: Vagina und Portio sind livide. Der Uterus ist kleinhühnereigroß und aufgelockert. Links neben und hinter dem Uterus tastet man einen frauenfaustgroßen, teigigen, druckempfindlichen Tumor, der den Douglasschen Raum vorwölbt.

Operation: Am 1.8.1961 kommt es zur Resektion des distalen Tubendrittels links bei wahrscheinlich komplettem Tubarabort.

Pathologischer Befund: In dem distalen bleistiftdicken Tubenanteil finden sich mikroskopisch ein sezernierendes Zylinderepithel, deciduale Umwandlung, choreale Wanderzellen. Fetale Zotten sind nicht nachzuweisen.

Schwangerschaftsdauer: Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 57 Tage.
Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 19.6.1961 - 1.8.1961, das sind 43 Tage. Die erste, eventuell einer Inplantationsblutung entspre-

chende Blutung, trat 22 Tage vor der Operation, am 21. Schwangerschaftstag ein. Zur Sickerblutung kam es am 40. Tag der Schwangerschaft, 3 Tage vor der Operation. Starke Schmerzen wurden am 42. Schwangerschaftstag, einen Tag vor der Operation angegeben.

Fall 10:

Die Patientin ist 30 Jahre alt. Die Periode ist nicht ganz regelmäßig, meist aber 28/7-12 Tage mit Schmerzen am ersten Tag. Es wurden keine Schwangerschaften durchgemacht. Zur Menarche kam es nach einer Therapie im 18. Lebensjahr.

Jetzige Anamnese: Die letzte Periode wird Anfang März 1961 angegeben. Um den 13.4.1961 setzten krampfartige Schmerzen im rechten Unterbauch ein. Es kam zu einem geringen blutigen Ausfluß. Am 4.5.1961 trat eine stärkere Blutung auf. Die Patientin wurde am 5.5.1961 in die Klinik überwiesen.

Gynäkologischer Befund: Die Scheide ist etwas livide. Der Uterus ist nach links verlagert. Rechts vom Uterus liegt ein frauenfaustgroßer weicher Tumor. Der Douglassche Raum ist sehr druckschmerzhaft und vorgewölbt. Die Douglaspunktion ergibt teils flüssiges Blut, teils Blutkoagel.

Operation: Am 5.5.1961 erfolgt die Operation. Im Douglasschen Raum liegen der Fet und ein Teil der Placenta. Man nimmt die teilweise Resektion der rechten Tube wegen stark blutenden Tubaraborts vor.

Pathologischer Befund: In dem hühnereigroß aufgetriebenen ampullären Tubenanteil finden sich mikroskopisch ein sezernierendes Zylinderepithel, stellenweise deciduale Umwandlung und fetale Zotten. Der 2,2 cm lange Fet befindet sich im Eihautsack.

Schwangerschaftsdauer: Die Termine sind wegen der Ungenauigkeit der Angabe der letzten Periode - Anfang März - nur sehr unsicher zu berechnen. Wenn man die letzte Periode um den 4.3.1961

annimmt, vergingen bis zur Operation 62 Tage. Die Schwangerschaftsdauer von dem entsprechend angenommenen Konzeptionstermin bis zum Tage der Operation ist die Zeit vom 18.3.1961 - 5.5.1961, das sind 48 Tage. Diese Dauer der Gravidität würde der Größe des Feten von 2,2 cm entsprechen.

Die Schmerzen setzten zugleich mit einem geringen blutigen Ausfluß am 26. Schwangerschaftstag, d.h. 22 Tage vor der Operation ein. Die starke Blutung trat am 47. Tag der Schwangerschaft, einen Tag vor der Operation auf.

b) Uterine Graviditäten

Fall A:

Die 43-jährige Patientin gibt eine regelmäßige Periode von 28/5 Tagen an. Sie hat sechsmal entbunden.

Die letzte Periode war am 23.1.1961. Wegen eines Portiocarcinoms wurde am 21.3.1961 die Operation nach Wertheim durchgeführt.

Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 57 Tage. Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zur Operation ist die Zeit vom 6.2.1961 - 21.3.1961, das sind 43 Tage.

Fall B:

Die Patientin ist 34 Jahre alt. Sie gibt eine Periode von 24-28/4-5 Tagen an. Von 3 Schwangerschaften führten 2 zur Geburt, eine dendete durch Abort.

Die letzte Periode war am 21.12.1960. Die Interruption wurde am 20.3.1961 vorgenommen.

Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 89 Tage. Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zur Operation ist die Zeit vom 2.1.1961 - 20.3.1961, das sind 77 Tage.

Fall C:

Es handelt sich um eine 25-jährige IV-Gravide mit regelmäßiger Periode.

Die letzte Periode wird am 20.9.1960 angegeben. Die Interruption erfolgte am 16.12.1960.

Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 87 Tage. Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zur Operation ist die Zeit vom 4.10.1960 - 16.12.1960, das sind 73 Tage.

Fall D:

Die 31-jährige Patientin gibt eine regelmäßige 28-tägige Periode an.

Die letzte Periode war am 9.9.1960. Die Interruption wurde am 26.11.1960 vorgenommen.

Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 78 Tage. Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zur Operation ist die Zeit vom 23.9.1960 - 26.11.1960, das sind 64 Tage.

Fall E:

Die Patientin ist 28 Jahre alt. Sie gibt eine 4-5wöchentliche Periode an.

Die letzte Periode trat am 8.9.1960 auf. Die Interruption erfolgte am 3.12.1960.

Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 86 Tage. Die Schwangerschaftsdauer vom vermutlichen Konzeptionstermin bis zur Operation ist die Zeit vom 22.9.1960 - 3.12.1960, das sind 72 Tage.

## 2. Zur histologisch-histochemischen Methodik

### a) Enzymhistochemie

MITTASCH definiert das Ferment als biologischen Katalysator folgendermaßen: "Ein Katalysator ist ein Stoff, der scheinbar durch bloße Gegenwart eine chemische Reaktion oder Reaktionsfolge nach Richtung und Geschwindigkeit bestimmt, und zwar in der Regel auf dem Wege der Schaffung neuer Elementarakte und damit gewisser mehr oder weniger gut erkennbarer Zwischenstufen oder Zwischenzustände". Das Ferment tritt dementsprechend im Endprodukt der biologischen Reaktion nicht auf.

Enzyme sind makromolekulare Eiweißstoffe. Meist handelt es sich um Proteide, die außer einem reinen Eiweißanteil, dem Apoferment, einen nicht eiweißartigen Anteil, das Coferment, enthalten (EULER). Das Apoferment besteht aus Aminosäuren, die durch Peptidbindungen in bestimmter Reihenfolge zu einem Polypeptid verbunden sind. Die Reihenfolge der Aminosäuren und deren freie Endgruppen bestimmen die Oberflächenstruktur der sogenannten aktiven Gruppe, des aktiven Zentrums, des Enzyms. Das Coferment ist eine niedermolekulare Substanz, deren Anwesenheit für die Aktivität des Enzyms unerläßlich ist. Häufig gehören noch anorganische Ionen oder Verbindungen zum Enzym, die als Aktivatoren die Reaktionsfähigkeit steigern. PEARSE gibt in "Histochemistry" (1960) an, Mg-Ionen seien der natürliche Aktivator der meisten Enzyme, die auf phosphorylierte Substrate wirken. In vielen Fällen könnten sie durch Mn-Ionen ersetzt werden.

Ein Ferment ist in seiner Wirkung von der Temperatur und dem pH-Wert des umgebenden Milieus abhängig. Beide Abhängigkeiten erklären sich aus der Eiweißnatur der Fermente und müssen bei der Behandlung des Materials berücksichtigt werden. Die Enzyme der Warmblüter haben entsprechend der Körpertemperatur ihr Reaktionsoptimum bei $37^{o}$ - $40^{o}$. Hinsichtlich des pH-Wertes läßt sich dagegen das

Reaktionsoptimum nur von Ferment zu Ferment angeben. Denn die Wirksamkeit eines bestimmten Fermentes ist durch die vom pH-Wert abhängige Dissoziation der gerade für dieses Enzym spezifischen Gruppen bedingt. Das pH-Optimum der alkalischen Phosphatase liegt bei pH 9,2.

Die Spezifität ist bei den einzelnen Enzymen sehr unterschiedlich. Bei der alkalischen Phosphatase ist die Katalyse in Bezug auf das Substrat nicht streng spezifisch.

In der Ferment-Histochemie werden nur die in der Zelle festgelegten strukturgebundenen sogenannten Desmoenzyme erfaßt (PEARSE, GÖSSNER).

Eine Grundforderung in der Ferment-Histochemie ist die Erhaltung der Aktivität, worauf vor allem bei der Fixierung zu achten ist.

Ein Enzym im Gewebe kann durch die fermentative Spaltung eines Substrates und Nachweis einer freigesetzten chromogenen Komponente dargestellt werden. Die Lokalisation und Intensität der Reaktion ist von der Art der Fixierung und der Nachweismethode abhängig.

b) Die alkalische Phosphatase

Im Jahre 1907 entdeckten die Japaner SUZUKI, YOSHIMURA und TAKAISHI im Reisbrei die alkalische Phosphatase. ROBISON erkannte 1923 den entscheidenden Einfluß des Ferments auf die Verknöcherungsvorgänge.

Die Histochemie des Ferments wurde durch die alkalische Phosphatase-Reaktion bahnbrechend gefördert, die TAKAMATSU in Japan 1938 und zu gleicher Zeit GOMORI in Amerika gelang.

VERZAR beschrieb 1936 die Funktion der alkalischen Phosphatase beim aktiven Transport der Glukose im Dünndarmepithel und in den Nierentubuli. 1949, 1950, 1952 wurde das Enzym von MEYERHOF

und GREEN und 1953 von MORTON als Transphosphorylierungsferment untersucht und als Enzym der Phosphatestersynthese ermittelt.

Die alkalische Phosphatase ist wegen der Vielfalt ihrer biologischen Aufgaben und insbesondere wegen ihrer Fähigkeit, verschiedene Monoester der Phosphorsäure - Nucleoproteide, Phospholipide und Phosphoproteide - zu spalten, ein sehr unspezifisches Ferment. Ihr physiologisches Substrat ist bisher nicht sicher bekannt.

MEYERHOF, GREEN (1949, 1950, 1952), DIXON und WEBB (1953), DAVISON-REYNOLD und Mitarbeiter (1955), MORTON (1955), LONDON und HUDSON (1955), DANIELLI (1958), DIXON und WEBB (1958) wiesen nach, daß die alkalische Phosphatase die Übertragung eines Phosphats von einem Alkohol auf einen anderen bewirkt.

Die alkalische Phosphomonoesterase kann als hydrolytische Phosphatase, Phosphotransferase und - noch nicht sicher erwiesen - (RICHTERICH) auch als synthetisierende Phosphatase wirken.

Entscheidend wichtig ist die Unterscheidung in die saure (unter pH 5) und die alkalische (über pH 9) Phosphatase.

Nach der rationellen Systematik der Fermentbenennungen von HOFFMANN-OSTENHOF (1953) ist die alkalische Phosphatase den Hydrolasen und unter diesen den Esterasen zuzurechnen. Ferner gehört sie zu den gruppenübertragenden Fermenten und unter diesen zu den Transphosphorylasen.

Phosphomonoesterasen sind unspezifisch in Bezug auf die Alkoholkomponente und katalysieren folgende Reaktion:

$$R.H_2PO_4 + H_2O \longrightarrow R.OH + H_3PO_4$$

Für mehrfach phosphatierte Substanzen, wie z. B. Adenosintriphosphat, ist das Schema das gleiche.

Entsprechend erfolgt die Reaktion bei den histochemisch weniger wichtigen Phosphodi- und -triesterasen:

$$R.HPO_4.R' + H_2O \longrightarrow R.H_2PO_4 + R'.OH$$

Die Transphosphorylasereaktion verläuft nach der allgemeinen Formel:

$$R.H_2PO_4 + R'.OH \longrightarrow R'.H_2PO_4 + R.OH$$

Diese Reaktion ist nach PEARSE (1960) noch nicht bewiesen. Die angeführten Formeln finden sich bei PEARSE "Histochemistry" (1960) s.384 f.

Für den Nachweis der unspezifischen alkalischen Phosphatase wurden verschiedene Methoden entwickelt: Zunächst (1938) arbeiteten GOMORI und TAKAMATSU mit der von KOSSA'schen Silbermethode. 1941 entwickelte GOMORI das Calcium-Cobaltsulfidverfahren. Dieses beruht darauf, daß ein unlösliches Metallsalz, dessen Phosphatanteil aus einem durch die alkalische Phosphatase gespaltenen organischen Phosphatester stammt, als Niederschlag in der fermenthaltigen Zone des Präparats festgelegt wird, der dann durch ein Entwicklungsverfahren (Cobaltnitrat, Ammoniumsulfid) sichtbar gemacht wird.

MENTEN, JUNGE, GREEN (1944), DANIELLI (1946), MANHEIMER, SELIGMAN (1949), GOMORI, PEARSE (1951) und andere führten eine neue Technik zum Nachweis der alkalischen Phosphatase - die Azofarbstoffmethode - ein. Bei diesem Verfahren wird der alkoholische Anteil des Phosphatesters nach Spaltung durch die alkalische Phosphatase nachgewiesen. Aus einem Naphthylphosphat wird durch Fermentaktivität das Naphthol freigesetzt und sofort mit einem Diazoniumsalz zu einem unlöslichen Azofarbstoff verbunden.

Diese Methode wurde in der vorliegenden Arbeit angewendet.

c) Histologisch-histochemische Methode

(1) Fixierung und Einbettung

Die Art der Fixierung und Einbettung entscheidet weitgehend über die Erhaltung der Aktivität des Enzyms im histochemischen Nachweisverfahren. Die meist angewandte Art der Einbettung in hartes Paraffin mit dem Schmelzpunkt bei $56^{\circ}$ - $58^{\circ}$ C nach Formalinfixierung hat sich

für den Nachweis der alkalischen Phosphatase als ungeeignet erwiesen. Die Einbettung auf diese Art führt wegen der hohen Temperaturen, die für die Verflüssigung des Paraffins nötig sind, zu einer erheblichen Aktivitätshemmung, die von DANIELLI (1946) mit bis zu 75 % angegeben wird. Weit besser wird das Enzym erhalten, wenn die Fixierung mit kaltem absolutem Aceton bei 4° C für 24 Stunden vorgenommen wird und eine kurze Einbettung in weiches Paraffin mit dem Schmelzpunkt bei 42° - 44° C erfolgt (MOWRY 1949) oder wenn Gefrierschnitte nach Formalinfixierung in 10%igem Formalin bei 4° C für 2 - 10 Stunden durchgeführt werden. Die kurze Formalinfixierung wird wegen der guten Enzym- und Strukturerhaltung von SELIGMAN, CHAUNCEY und NACHLAS, PEARSE und GÖSSNER besonders empfohlen.

Das Entwässern in Alkohol und das Aufhellen in Benzin nach Acetonfixierung vor der Einbettung in weiches Paraffin führt zu keinem Aktivitätsverlust (MOWRY 1949).

Das Aufziehen der 6 µ dicken Schnitte mit Eiweiß auf den Objektträger beeinträchtigt die Fermentaktivität nicht, wenn die anschließende Trocknung der Präparate bei nicht mehr als 37° C und nicht länger als 3 Stunden vorgenommen wird.

Die Schnitte müssen bis zur Phosphatasefärbung bei 4° C aufbewahrt werden, während die Paraffinblöcke bei Zimmertemperatur gelagert werden können (PEARSE 1960).

Die Paraffineinbettung macht vor der Färbung des Entparaffinieren mit Leuchtpetroleum (= Kerosin, Siedebereich 150 - 330° C; RÖMPP), Aceton und ein Spülen in Wasser nötig.

(2) Färbungen

(a) Haematoxylin-Eosin-Färbung

Die morphologisch-histologisch auszuwertenden Schnitte wurden mit Haematoxylin-Eosin gefärbt.

(b) PAS-Reaktion nach MC MANUS und HOTCHKISS

Die Reaktion weist Mucopolysaccharide, Hyaluronsäure, Glyko- und Mucoproteide, Glykolipoide und Lipoproteide (GERSH, 1949) nach.

Die Färbung beruht auf der Oxydation von Glykolgruppen zu Aldehyden durch Perjodsäure. Die Aldehyde bilden mit dem Schiff'schen Reagenz eine intensiv rote Verbindung. Die notwendigen Reagenzien sind:

1. Perjodsäure:

| | |
|---|---|
| Perjodsäure, krist. p.a. ($HJO_4$ $2H_2O$) | 0,8 g |
| Aqua dest. | 90,0 ccm |
| 1/5 - molare Natriumacetatlösung | 10,0 cm |
| | frisch anzusetzen |

2. Schiff'sches Reagenz:

| | |
|---|---|
| Pararosanilin (Bayer) | 2,5 g diese in |
| n HCl | 75,0 ccm |
| | unter Schütteln lösen |
| Kaliummetabisulfit | 2,5 g in |
| Aqua dest. | 425,0 ccm |
| | lösen und zusetzen |

Die Lösung 24 Stunden im Dunkeln stehenlassen. Die Rotfärbung geht in Gelb über. Danach werden 1,5 g Aktivkohle zugesetzt. Die Lösung wird 2 Minuten geschüttelt und anschließend filtriert.

3. $SO_2$-Wasser:

| | |
|---|---|
| 10%ige Natriummetabisulfitlösung | 10,0 ccm |
| n HCl | 10,0 ccm |
| Aqua dest. | 200,0 ccm |
| Lösung 1/2 Stunde vor Gebrauch ansetzen. | |

Der Vorgang der Färbung ist im einzelnen folgender:

| | |
|---|---|
| 1. Entparaffinieren der Schnitte mit Leuchtpetroleum | 2-5 Min. |
| 2. Überführen in Wasser über Aceton | |
| 3. Schnitte bei Zimmertemperatur in frisch angesetzte Perjodsäurelösung bringen | 5 Min. |
| 4. Schnitte in mehrmals gewechseltem Aqua dest. waschen | 10 Min. |

5. Schnitte in frisch bereitetes Schiff'sches Reagenz bringen — 30 Min.
6. dreimalige Spülung in frischem $SO_2$-Wasser — je 10 Min.
7. Spülung in Aqua dest. oder Leitungswasser — 30 Min.
8. Schnitte in 70%igen, 96%igen und zweimal in absoluten Alkohol bringen
9. Eindeckung

(c) Azokupplungsreaktion

Für die ursprüngliche MENTEN-JUNGE-GREEN-Methode wurde von FRIEDMAN und SELIGMAN 1950 eine Modifikation vorgeschlagen, die GOMORI 1951 ausführte. Es wurden Schnitte statt mit den relativ unlöslichen Calciumsalzen als Substrat mit leichtlöslichem Mono-Natrium-alpha-Naphthylphosphat bei pH 9,4 und Anwesenheit verschiedener stabiler Diazoniumsalze inkubiert. GOMORI (1951) verglich die Ergebnisse mit denen seines Calcium-Cobaltsulfid-Verfahrens aus dem Jahre 1941. Dabei fiel auf, daß es bei der Azofarbstoff-Methode nicht - wie bei der Calcium-Cobaltsulfid-Methode - zu einer Phosphatasereaktion in den Zellkernen kam. GÖSSNERs vergleichende Untersuchungen der alten GOMORI-Methode mit der Azofarbstoff-Technik führten zu dem gleichen Ergebnis (1958). Er bemerkt dazu, daß Bedeutung und Ursachen dieser Abweichung nicht sicher geklärt sind und wertet, wie GOMORI, die positive Kernreaktion bei der Calcium-Cobaltsulfid-Methode als Artefakt.

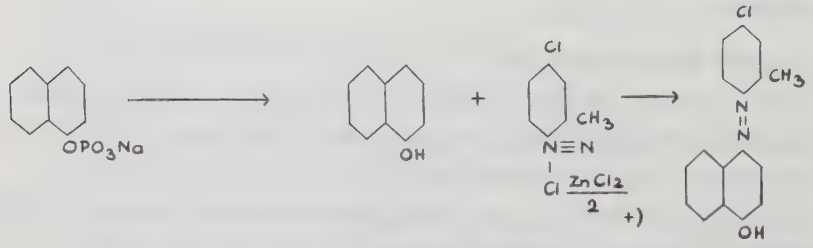
Auch bei der Azokupplungsreaktion muß mit artefiziellen Fehlern gerechnet werden. Es kann zu einer falschen positiven Reaktion - ohne Beteiligung des Ferments - kommen; Quelle für diesen Fehler ist die Möglichkeit, daß das Diazoniumsalz mit von vornherein im Gewebe vorhandenen Stoffen oder mit Reaktionsprodukten einer spontanen Hydrolyse des zugesetzten Substrats reagiert. Weiter kann es zu einer falschen Lokalisation wegen der Möglichkeit einer Diffusion des Enzyms oder der Produkte der fermentativen Hydrolyse kommen.

Im einzelnen handelt es sich bei der Azofarbstoff-Methode um eine simultane Kupplungsreaktion: zwei Reaktionen, nämlich die fermentative Spaltung des in der Inkubationslösung enthaltenen Substrats und die Kupplung des primären Reaktionsproduktes - des Alkohols - mit dem Diazoniumsalz zum Azofarbstoff laufen gleichzeitig ab. Dementsprechend muß die Inkubationslösung das zu spaltende Substrat und das Diazoniumsalz enthalten.

Bei den Untersuchungen für diese Arbeit wurde als Substrat Mono-Natrium-alpha-Naphthylphosphat verwendet, als Diazoniumsalz Chlorzinkdoppelsalz des diazotierten 5-chlor-o-Toluidin (Echtrotsalz TR). Beide Stoffe wurden in Veronal-Acetat-Puffer (pH 9,2) gelöst. Nachdem aus der Lösung ein braunroter Niederschlag abfiltriert worden war, wurde sie mit 1 n NaOH-Lösung genau auf pH 9,2 eingestellt.

Bei der Inkubation, zu der jeweils frisch bereitete Lösung verwandt wurde, spaltet die alkalische Phosphatase vom Mono-Natrium-alpha-Naphthylphosphat enzymatisch das alpha-Naphthol ab; dieses reagiert sofort mit dem Diazoniumsalz, was an den Orten der Phosphataseaktivität zu einem roten Niederschlag führt:

| Substrat | Ferment alkal. Phospatase pH 9,2 | Spaltprodukt | stabiles Diazoniumsalz | unlöslicher Farbstoff |
|---|---|---|---|---|




+) Formel des Chlorzinkdoppelsalzes nach W. Gössner, ergänzt mit 5-Chlor-o-Toluidin

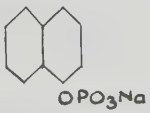
Auf einige methodisch wichtige Verhältnisse muß noch besonders hingewiesen werden:

Die Wasserstoffionenkonzentration: Der pH-Wert bestimmt die Reaktionsbereitschaft einer Diazoniumverbindung. Die Geschwindigkeit der Kupplung des Alkohols mit dem Diazoniumsalz zum Farbstoff hängt vom pH-Wert der Inkubationslösung ab. Für die alkalische Phosphatase ist ein pH-Wert von 9,2 erforderlich. Es ist als pH-Wert der optimalen Fermentreaktion und der geringsten Diffusion von GOMORI (1950), JAKOBY und MARTIN (1949), PEARSE (1960) beschrieben.

Alpha-Naphthol und Echtrotsalz TR reagieren bei dieser Wasserstoffionenkonzentration unmittelbar und schnell miteinander, wodurch Diffusionsartefakte, die bei einer zu langsamen und unvollständigen Kupplung entstehen würden, weitgehend vermieden werden.

Die Temperatur: Das Temperaturoptimum der Enzyme liegt bei $37^{\circ}$ C. Da bei dieser Temperatur aber sehr schnell eine Zersetzung der Diazoniumsalze eintritt, werden die Färbungen bei Zimmertemperatur durchgeführt (GÖSSNER, 1958).

Das Substrat:

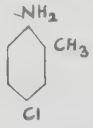



Das Mono-Natrium-alpha-Naphthylphosphat schafft wegen seiner besonders leichten Löslichkeit eine optimale Substratkonzentration in der Inkubationslösung und dadurch eine ausgiebige Reaktionsmöglichkeit mit dem Ferment (GOMORI 1951). Als alpha-Naphthylester führt es nach der Kupplung zu einem feindisperseren, sofort präzipitierenden Farbstoffniederschlag mit besserer Lokalisationstreue, wenn auch weniger leuchtender Farbe, als die häufig gebrauchten vor der Präzipitation kolloidallöslichen beta-Naphthylester (GOMORI 1952, GROGG und PEARSE 1952, GÖSSNER 1958).

Zur Vermeidung von Diffusionsartefakten durch Verlagerung des primären Reaktionsproduktes, muß genügend Diazoniumsalz zur Verfügung stehen, um eine sofortige Kupplung zu dem unlöslichen Azofarbstoff am Enzymort zu gewährleisten.

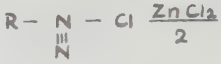
Die Substratkonzentration in der Inkubationslösung muß bei einem Gewebe mit niederer Fermentaktivität soviel Substrat zur Verfügung stellen, daß die Fermentkonzentration vollkommen ausgenutzt wird. GÖSSNER gibt Werte bis zu 0,5 mg/ccm an. Gewebe mit hoher Enzymaktivität müssen mit geringerer Substratkonzentration behandelt werden, um den sonst entstehenden Überschuß an fermentativen Reaktionsprodukten zu vermeiden. Der hier angewandte Nachweis der alkalischen Phosphatase nach PEARSE und DUSPIVA schreibt eine Substratkonzentration von 1 mg/ccm vor.

Das Diazoniumsalz: Die Diazoniumsalze in trockener Form sind meist nicht stabil. Eine Art der Stabilisierung ist das Überführen in ein komplexes Diazoniumsalz, wie es bei dem angewandten Chlorzinkdoppelsalz des diazotierten 5-Chlor-o-Toluidin der Fall ist.




5-Chlor-o-Toluidin

Bildung eines Chlorzinksalzes einer Diazoniumverbindung (s. Gössner 1958)




Sogenannte Stellmittel führen zu konstanten Stärken der Diazoniumsalzpräparate, die meist um 20 % diazotierbare Base enthalten.

Eine zu hohe Färbesalzkonzentration (über 5 mg/ccm) hemmt im Gewebe mit geringer Fermentkonzentration bzw. -aktivität die Nachweisreaktion. Zu niedere Diazoniumsalzkonzentration kann, wie erwähnt, zu Diffusionsartefakten führen.

Für den Nachweis der alkalischen Phosphatase mit Echtrotsalz TR hat sich eine Konzentration von 0,5 mg/ccm bewährt.

Die Eigenschaften des Echtrotsalz TR beim Nachweis der alkalischen Phosphatase (nach PEARSE und GÖSSNER)

| | |
|---|---|
| Eigenfarbe | keine |
| Unspezifische Anfärbung | keine |
| Niederschlagsform | diffus, feinkörnig |
| Zersetzung | keine oder geringe |
| Inhibition | gering |
| Kupplungskomponente aus dem Substrat | alpha-Naphthol |
| pH-Wert | 9,2 |
| Farbe des Azofarbstoffs | rot, rotbraun |

Die Autolyse: Da es sich bei den durchgeführten Untersuchungen um frisches Operationsmaterial handelt, das gleich nach der Entnahme in genügend kleinen Stücken in ein Fixiermittel gebracht wurde, sind die postmortalen autolytischen Vorgänge, auf die bei autoptisch gewonnenem Material Rücksicht genommen werden muß, von geringerer Bedeutung.

Übersicht über den histochemischen Nachweis der alkalischen Phosphatase

Fixierung und Einbettung für den Paraffin-Schnitt:

1. Fixieren in kaltem absolutem Aceton bei $4^{\circ}$C für 24 Stunden, dreimaliger Wechsel
2. Entwässern in absolutem Alkohol
3. Aufhellen mit Benzin (nicht Benzol)
4. Paraffineinbettung bei $42^{\circ}$ - $44^{\circ}$ C, nur kurz
5. Anfertigung von Schnitten von 6 - 10 $\mu$
6. Fixieren der Schnitte mit Eiweiß auf dem Objektträger
7. Trocknen der Schnitte bei höchstens $37^{\circ}$ C, drei Stunden
8. Aufbewahrung der Schnitte bis zur Phosphatasefärbung bei $4^{\circ}$ C
9. Für die Färbung entparaffinieren der Schnitte mit Leuchtpetroleum, (= Kerosin; Siedebereich: $150^{\circ}$ - $330^{\circ}$) 2 - 5 Minuten
10. Überführen in Wasser über Aceton.

Fixierung für den Gefrierschnitt:

1. Fixieren in 10 %igem Formaldehyd bei 4° C, 2 - 10 Stunden
2. Anfertigung von 10 - 15 µ dicken Schnitten nach Gefrieren
3. Ohne Aufklebemittel auf den Objektträger bringen, Befestigung der Schnitte durch 1 - 3 Stunden Trocknung an der Luft.

Färbung:

1. Lösen von 100 mg Diazoniumsalz des 5-Chlor-o-Toluidin und 200 mg Mono-Natrium-alpha-Naphthylphosphat in 200 ml Veronal-Acetat-Puffer bei pH 9,2. Rühren
2. Abfiltrieren des rotbraunen Niederschlages
3. Einstellen des genauen pH 9,2 mit 1 n NaOH
4. Inkubation mit der frischbereiteten Lösung bei Zimmertemperatur; Paraffinschnitte 12 - 18 Stunden, Gefrierschnitte 1 Stunde
5. Waschen der Schnitte in fließendem Wasser, 1 - 3 Minuten
6. Gegenfärbung in Mayers Hämalaun, 4 - 5 Minuten
7. Bläuen in fließendem Wasser
8. Eindeckung mit Glyceringelatine

3. Histologisch-histochemische Befunde

Bei allen untersuchten Fällen wurde das Corpus luteum graviditatis durch Ausschälung bzw. Keilexcision gewonnen.

a) Tubargraviditäten

Fall 1:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 14 mm.

Haematoxylin-Eosin-Färbung (HE): Die Luteinzellschicht ist 4 mm breit und stark gefältelt. Theka- und Granulosaluteinzellen sind gut zu unterscheiden. Man sieht vereinzelte Vakuolen von herausgelösten Lipoiden und einsprossende Kapillaren. In der medianen Cyste findet sich ein lockeres Bindegewebe mit schon großkalibrigen Gefäßen.

Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS): Die Reaktion ist in den Zellgrenzen und in vereinzelten Tropfen und Schollen des Cytoplasmas der Luteinzellschicht positiv. Die Thekazellen zeigen nur eine andeutungsweise schwache PAS-positive Reaktion der Zellgrenzen. Die einsprossenden Gefäße und die bindegewebigen Septen weisen eine besonders starke Reaktion auf.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Die alkalische Phosphatase wird in unregelmäßiger fleckenweiser Verteilung in der Theka- und Granulosaluteinzellschicht stark nachgewiesen. Die Farbreaktion im Cytoplasma ist diffus und feinkörnig. Die Gefäße zeigen in der Intima eine starke Reaktion.

Fall 2:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 10 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist 2 - 3 mm breit und gefältelt. Eine Differenzierung in Theka- und Granulosaluteingewebe ist nicht möglich. Man sieht eine außerordentlich starke Vakuolisierung des Luteingewebes. Es ist in hohem Maße von einem Proliferationsgewebe durchsetzt. Starke bindegewebige Stränge gehen in die bindegewebige Auskleidung der sonst leeren medianen Cyste über.

PAS: Die PAS-Reaktion ist an den Zellgrenzen stark positiv und zeigt eine schollige, stellenweise tropfige Ablagerung PAS-positiver Substanzen im Cytoplasma des Luteingewebes. Das Bindegewebe, besonders die Gefäße, reagieren stark positiv.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Die Reaktion ist in der gesamten Luteinzellschicht stark positiv. In der peripheren Zone liegt über Strecken eine höhere Farbintensität als cystenwärts vor. In einem umschriebenen Bezirk ist die Reaktion aber peripher und cystenwärts erheblich stärker als in dem dazwischenliegenden Luteingewebsstreifen. Die Reaktion ist in den Zellgrenzen diffus und im Cytoplasma feinkörnig. In den Gefäßwänden des Bindegewebes zeigt sich eine sehr stark positive Reaktion.

Fall 3:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 12 - 14 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist bis zu 4 mm breit; sie ist stark gefältelt. Theka- und Granulosaluteinzellen können entlang den Septen herdweise differenziert werden. Es liegt eine beginnende Vakuolisierung und eine starke strangförmige bindegewebige Durchsetzung des Drüsengewebes vor. Gegen die mediane Cyste hin hat sich eine starke bindegewebige Abdeckung ausgebildet. In der Cyste findet sich ein junges lockeres Bindegewebe.

PAS: Die Zellwände der Luteinzellen sind PAS-positiv. Fleckweise liegt eine schollige und tropfige Ablagerung PAS-positiver Substanzen im Cytoplasma vor. Das Bindegewebe und die Gefäßwände reagieren stark.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Die gesamte Luteinzellschicht zeigt eine, allerdings in der Verteilung und Intensität sehr unterschiedliche, starke positive Farbreaktion. Ein schmaler peripher gelegener Saum, der sich auch in die Falten der Granulosaluteinzellschicht hineinzieht, ist besonders intensiv gefärbt. Die Zellwände der Luteinzellen zeigen eine starke Reaktion, im Cytoplasma ist die Reaktion körnig. Die Gefäßwände des Bindegewebes sind Phosphatase-positiv.

Fall 4:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist bis zu 20 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist 1 - 1,5 mm breit und schwach gefältelt. Abschnittsweise ist eine Differenzierung in Theka- und Granulosaluteinzellen möglich. Es finden sich vereinzelte intrazelluläre Vakuolen und spärliches einsprossendes Bindegewebe. Die Cystenwand ist mit einem schmalen jungen Bindegewebsbelag ausgekleidet. In der medianen Cyste liegt eine frische Blutung ohne Zeichen einer Organisation vor. An einigen Stellen ist Blut auch in die Luteinschicht eingedrungen.

PAS: Im Luteingewebe ist die PAS-Reaktion an den Zellgrenzen schwach positiv. Es findet sich keine Ablagerung PAS-positiver Substanzen im Cytoplasma. Das Bindegewebe zeigt eine stärkere Reaktion.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Die Thekaluteinzellen weisen eine sehr deutliche körnige positive Fermentreaktion im Cytoplasma auf. Die Zellgrenzen sind diffus rotbraun gefärbt. In der Granulosaluteinschicht liegt eine fleckige, gesprenkelte positive Reaktion vor, die fast ausschließlich an einsprossende Kapillaren gebunden zu sein scheint. In den Gefäßwänden des Bindegewebes wird das Ferment ebenfalls gefunden.

Kontrollgefrierschnitt: Die Verteilung der alkalischen Phosphatase zeigt das gleiche Bild wie im Paraffinschnitt, nur erscheinen dort die Kapillaren um ein geringes intensiver gefärbt.

Fall 5:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 9 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist 1 mm breit und wenig gefältelt. Eine Differenzierung in Theka- und Granulosaluteinzellen ist nicht möglich. Das gesamte Luteingewebe ist in bindegewebiger Umwandlung. Eine bindegewebige Abdeckung umschließt die nur ein wandständiges kleines Blutkoagel enthaltende, im übrigen leere Cyste.

PAS: In der Luteinzellschicht findet sich eine PAS-positive Reaktion der Zellgrenzen von ungleichmäßiger Intensität. Ganz vereinzelt finden sich tropfige Ablagerungen im Cytoplasma. Bindegewebe und Gefäße sind deutlich PAS-positiv.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Ein cystennaher und ein peripherer Saum zeigen eine feinkörnige Phosphatase-Reaktion. Die übrige Luteinzellschicht weist eine vereinzelt auftretende fleckige schwach positive Fermentreaktion auf, die teilweise in Beziehung zu Gefäßen steht, deren Wände deutlich positiv reagieren.

Fall 6:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist nicht bekannt, es liegen nur spärliche Anteile des Organs vor.

HE: Das 2 mm breite Luteinzellband ist in dem vorliegenden Stück schwachgefältelt. Theka- und Granulosaluteinzellen sind deutlich zu differenzieren. In der Thekaluteinzellschicht ist die Zellstruktur weitgehend aufgehoben. Die Granulosaluteinzellschicht ist stark vakuolisiert und zeigt deutlich ein strangförmig einsprossendes Bindegewebe sowie Kapillarisierung. Zur medianen Cyste hin findet sich eine breite Auflagerung von jungem Bindegewebe.

PAS: Die PAS-Reaktion ist in allen Anteilen stark positiv. Die Thekaluteinzellschicht ist diffus gefärbt. In der Granulosaluteinzellschicht findet sich eine schollige und vereinzelt tropfige Ablagerung im Cytoplasma und eine intensive diffuse Färbung der Zellgrenzen.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Nur in einem von einer Blutung durchsetzten Teil findet sich eine diffuse positive Reaktion. Sonst ist das Drüsengewebe bis auf eine starke Reaktion in den Kapillaren Phosphatase-negativ.

Fall 7:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 10 - 12 mm.

HE: Die 4 - 5 mm breite Luteinschicht ist grob gefältelt. Das Luteingewebe ist in hohem Maße bindegewebig durchsetzt. Die Theka- und Granulosaluteinzellen lassen sich differenzieren. Die Luteinzellen sind weitgehend degeneriert und erscheinen geschrumpft. Von diesem Prozeß sind die Thekaluteinzellen weniger betroffen. Die Luteinschicht ist stark vaskularisiert. Die mediane Cyste ist von einem sehr zellreichen, jungen Bindegewebe vollständig ausgefüllt.

PAS: In der Thekaluteinzellschicht sind die Zellgrenzen sehr intensiv PAS-positiv. Im Cytoplasma findet sich eine schollige Ablagerung

PAS-positiver Substanzen. Die weitgehend degenerierte Granulosaluteinzellschicht zeigt eine starke grobkörnige und schollige Reaktion. Das Bindegewebe und besonders die Gefäße sind PAS-positiv.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: In der peripheren Zone des Thekaluteinzellsaumes läßt sich eine sehr intensive fein- und grobkörnige Reaktion nachweisen. Zur Cyste hin wird die Reaktion zunächst deutlich, dann allmählich schwächer. Ein Zellstreifen um die bindegewebig ausgefüllte mediane Cyste weist eine stärkere Reaktion auf. Die Reaktion in den Gefäßwänden ist deutlich positiv.

Kontrollgefrierschnitt: Die Reaktion zeigt in Verteilung und Intensität das gleiche Bild wie der Paraffinschnitt.

Fall 8:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 14 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist 3 - 4 mm breit und stark gefältelt. In umschriebenen Bezirken sind Theka- und Granulosaluteinzellen gut zu differenzieren. Es findet sich eine beginnende, schwache Vakuolisierung und deutliche Einsprossung von Kapillaren und jungem Proliferationsgewebe in der Luteinzellschicht. Der Wand der medianen Cyste liegt ein breiter, zarter Bindegewebsbelag auf, in dem noch Reste einer Blutung erkennbar sind.

PAS: In dem Luteingewebe ist die PAS-Reaktion deutlich positiv. Stellenweise sind die Thekaluteinzellen PAS-negativ. In einigen sehr intensiv reagierenden Bezirken ist die Einlagerung PAS-positiver Substanzen gehäuft und deutlich tropfig, während sie sonst im Cytoplasma diffus, feinkörnig und schollig vorliegt. Die Zellgrenzen sind diffus gefärbt. Das Bindegewebe und die Gefäße zeigen eine sehr deutliche PAS-positive Reaktion.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Das Luteingewebe weist eine starke Reaktion auf. Die periphere Schicht hat stellenweise

deutlicher als die cystennahe reagiert. Andere Bezirke zeigen über die gesamte Breite der Luteinschicht gleiche Farbintensität. Die Ablagerungen im Cytoplasma sind feinkörnig und diffus, die Zellgrenzen sind diffus und besonders stark gefärbt. Die Nachweisreaktion in der Gefäßintima ist deutlich positiv.

Fall 9:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 12 mm.

HE: Es liegt eine bis zu 4 mm breite, stark gefältelte Luteinzellschicht vor. Theka- und Granulosaluteinzellen sind in der Peripherie und entlang den bindegewebigen Septen abschnittsweise zu differenzieren. Die Luteinzellschicht weist eine deutliche Vakuolisierung und Einsprossung von Kapillaren und jungem Proliferationsgewebe auf. In der medianen Cyste findet sich wandständiges, zartes Bindegewebe, in das bindegewebige Stränge aus der Luteinzellschicht übergehen, und eine Blutung.

PAS: Im Luteinband läßt sich in der Intensität der positiven PAS-Reaktion abschnittsweise ein Unterschied zwischen Theka- und Granulosaluteinzellen feststellen. In der Thekaluteinzellschicht ist die Ablagerung scholliger und bisweilen tropfiger PAS-positiver Substanzen geringer. Die Zellgrenzen sind überall deutlich diffus gefärbt. Das Bindegewebe und besonders die Gefäße sind stark PAS-positiv.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Die Luteinzellschicht zeigt in ganzer Breite eine stark positive Nachweisreaktion, deren Intensität fast überall gleich ist. Nur in einigen Bezirken ist sie sowohl peripher als auch cystennah etwas stärker als in dem mittleren Streifen des Luteinbandes. Die Gefäße zeigen größtenteils eine starke alkalische Phosphatase-Reaktion.

Fall 10:

Der Durchmesser des Corpus luteum beträgt 13 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist bis zu 5 mm breit und gefältelt. Theka- und Granulosaluteinzellen sind zu differenzieren. In der Luteinschicht findet sich eine beginnende Vakuolisierung und deutliche Proliferation von jungem Bindegewebe mit einsprossenden Kapillaren. Die mediane Cyste ist fast vollständig mit einem zarten Bindegewebe ausgefüllt.

PAS: Die Luteinzellschicht ist deutlich PAS-positiv. Die Zellgrenzen weisen die Reaktion diffus auf, das Cytoplasma zeigt eine schollige, nur an wenigen Stellen tropfige PAS-positive Reaktion. Das Bindegewebe und die Gefäße sind stark angefärbt.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Die gesamte Luteinzellschicht zeigt eine positive Nachweisreaktion. Peripher ist diese deutlich stärker als cystenwärts. Die Zellgrenzen stellen sich sehr intensiv dar. Das Cytoplasma zeigt eine diffuse und körnige Reaktion, die Gefäßwände reagieren positiv.

b) Uterine Graviditäten

Fall A:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 13 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist bis zu 6 mm breit und schwach gefältelt. Eine Differenzierung von Theka- und Granulosaluteinzellen ist nur stellenweise möglich. Vorwiegend cystennah und ganz peripher liegt eine spärliche Vakuolisierung vor. In der Luteinzellschicht findet sich wenig zartes einsprossendes Bindegewebe mit vereinzelten Kapillaren. Dem Luteingewebe liegt zur Cyste hin eine deutliche junge lockere bindegewebige Abdeckung an. Diese Bindegewebsschicht geht direkt in das die Cyste nicht ganz ausfüllende zarte Proliferationsgewebe über.

PAS: Die PAS-Reaktion ist deutlich positiv im Bindegewebe und der Luteinzellschicht. Cystennah und peripher weisen die Zellgrenzen eine

besonders intensive PAS-Reaktion auf. Im Cytoplasma ist die Reaktion vorwiegend schollig, aber auch körnig, tropfig und diffus. Das übrige Luteingewebe reagiert diffus PAS-positiv. Die Reaktion im Bindegewebe und in den Gefäß- und Kapillarwänden ist am intensivsten.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Das Luteingewebe ist bis auf zwei peripher gelegene Stellen, die eine deutliche positive Reaktion aufweisen, Phosphatase-negativ.

Kontrollgefrierschnitt: In kurzen Abschnitten liegt in der äußersten Zellreihe des Luteingewebes eine positive körnige Fermentreaktion vor, während sich die gesamte übrige Luteinzellschicht Phosphatase-negativ verhält.

Fall B:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 11 mm.

HE: Die bis zu 2,5 mm breite Luteinzellschicht ist grob gefältelt. Theka- und Granulosaluteinzellen sind nicht zu unterscheiden. Es liegt eine deutliche Vakuolisierung vor. Die hochgradige bindegewebige Durchsetzung der Luteinzellschicht geht in strangförmigen Zügen in die bindegewebige Proliferation der medianen Cyste über, die diese größtenteils ausfüllt.

PAS: Die Luteinzellschicht zeigt eine schwache, das Bindegewebe eine deutliche PAS-positive Reaktion.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Das Ferment läßt sich in großen Abschnitten der peripheren Luteinzellschicht nachweisen. Die Zellgrenzen stellen sich besonders intensiv dar und sind diffus gefärbt. Im Cytoplasma ist die Reaktion stellenweise körnig. In einem umschriebenen Bereich, in dem die Granulosaluteinzellen nicht deutlich voneinander abzugrenzen sind, liegt eine diffuse Phosphatase-Reaktion des Gewebes vor. Die Gefäßwände zeigen eine positive Fermentreaktion.

Fall C:
Der Durchmesser des Corpus luteum ist 15 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist bis zu 4,5 mm breit und stark gefältelt. Eine Differenzierung in Theka- und Granulosaluteinschicht ist nicht möglich. Die Luteinschicht ist vakuolisiert und in hohem Maße bindegewebig durchsetzt. Ein faserreiches Bindegewebe liegt der Luteinzellschicht cystenwärts an. In der von einem lockeren zellarmen jungen Bindegewebe ausgefüllten Cyste liegen einzelne ältere Blutkoagel.

PAS: Das Luteingewebe ist schwach PAS-positiv. Das Bindegewebe, besonders die Abdeckung der Cyste zum Luteingewebe hin, zeigt eine stärker positive Reaktion.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Peripher und unmittelbar der obliterierten Cyste anliegend weist das Luteingewebe eine deutliche Fermentreaktion auf. In einigen Abschnitten reagiert auch das übrige Luteingewebe schwach positiv. Die Färbung ist in den Zellgrenzen diffus und im Cytoplasma körnig. Die Gefäßwände sind Phosphatase-positiv.

Fall D:
Der Durchmesser des Corpus luteum ist 16 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist bis zu 5 mm breit und sehr stark gefältelt. Theka- und Granulosaluteinzellen sind nicht zu unterscheiden. Das Luteingewebe ist vakuolisiert und stark bindegewebig durchsetzt. Die mediane Cyste ist von einem jungen lockeren Bindegewebe ausgefüllt. Die Abdeckung des Luteingewebes gegen die Cyste hin ist stellenweise sehr stark und weist zum Teil großkalibrige Gefäße auf. Es findet sich eine bindegewebig eingekapselte Blutung in dem die Cyste ausfüllenden Gewebe.

PAS: Das Luteingewebe ist sehr schwach PAS-positiv. Das Bindegewebe ist deutlich gefärbt, vor allem die Membran zwischen Luteingewebe und Cyste und die Membran, die die Blutung einschließt.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Abschnittsweise ist das Luteingewebe in seiner ganzen Breite Phosphatase-positiv. Die periphere Schicht reagiert deutlich intensiver als die cystennahe. Die Reaktion ist diffus und körnig. Die Gefäßwände zeigen teilweise eine positive Phosphatase-Reaktion.

Fall E:

Der Durchmesser des Corpus luteum ist 13 mm.

HE: Die Luteinzellschicht ist 4 mm breit und wenig gefältelt. Theka- und Granulosazellschicht lassen sich nicht unterscheiden. Es finden sich wenige Vakuolen in der Luteinschicht. Die bindegewebige Einsprossung besteht vorwiegend aus jungen Kapillaren. Die mediane Cyste zeigt einen breiten Wandbelag aus jungem lockerem Bindegewebe.

PAS: PAS-positive Substanzen finden sich stellenweise in den Zellgrenzen und als feinkörnige Einlagerungen in dem Cytoplasma der Luteinzellen. Das Bindegewebe reagiert deutlich PAS-positiv.

Alkalische Phosphatase-Nachweis: Die Fermentreaktion ist in den peripheren Abschnitten stark, in den zentralen Abschnitten schwächer ausgeprägt. Es liegt eine feinkörnige Farbreaktion im Cytoplasma und eine diffuse Färbung in den Zellgrenzen vor. Die Gefäßwände reagieren Phosphatase-positiv.

## IV. Diskussion der Befunde

### 1. Anamnese und Klinik der untersuchten Fälle

Zur Anamnese ergeben die mitgeteilten Krankengeschichten und die tabellarische Übersicht (Tabelle 3) bei den untersuchten 10 Fällen von Eileiterschwangerschaft ein Alter der geschlechtsreifen Patientinnen zwischen 19 und 37 Jahren und einen meist regelmäßigen Cyklus mit einem Intervall von 26 bis 32 Tagen und 2 bis 12-tägiger Blutungsdauer. Die Schwangerschaftsdauer wurde daher allgemein aus dem bei der Periodenangabe vermuteten Follikelsprung als Konzeptionstermin, vereinzelt auch aus der Größe des Feten, bzw. Fruchtsackes, bis zum Absterben der Frucht, erkenntlich an genitaler Blutung, Deciduaabgang oder abdominalen Schmerzen, errechnet.

Bei den 10 Tubargraviditäten wurde eine Schwangerschaftsdauer vom Konzeptionstermin bis zum Fruchttod von 14 bis 53 Tagen festgestellt. Von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 40 bis 108 Tage, von der letzten Periode bis zur Störung der Gravidität 30 bis 67 Tage, sodaß bei der Exstirpation des Corpus luteum graviditatis die Frucht bereits seit 1 Tag bis 58 Tagen abgestorben war.

Bei den 5 uterinen Graviditäten handelt es sich um 4 Schwangerschaftsunterbrechungen aus medizinischer Indikation und eine Radikalexstirpation nach Wertheim. Die 4 Interruptionen wurden 64 bis 77 Tage nach der Konzeption, die Radikalexstirpation am 43. Tage nach dem Konzeptionstermin durchgeführt.

Bei den klinischen Befunden ist hervorzuheben, daß bei 6 Patientinnen eine Douglaspunktion vorgenommen wurde, die in 3 Fällen frisches Blut, in 3 Fällen altes geronnenes Blut ergab. Zur Nidation der ektopischen Gravidität ist festzustellen, daß 8 Tubargraviditäten in der rechten und 2 in der linken Tube lokalisiert waren. Nach den Operationsberichten erfolgte die Entnahme des Corpus luteum durch Ausschälung bzw. Keilexcision in 7 Fällen auf der Seite der graviden Tube;

in 3 Fällen war die Seite der Entnahme aus den Operationsberichten nicht ersichtlich. Nach den Operationspräparaten handelte es sich in 4 Fällen um intakte Tubargraviditäten, in 5 Fällen um Tubaraborte und in 1 Fall um eine Tubarruptur.

Bei den Patientinnen mit Schwangerschaftsunterbrechung aus medizinischer Indikation bestanden uterine Frühgraviditäten mit normalem Verlauf. Bei der Laparotomie wurde das Corpus luteum graviditatis ausgeschält.

## 2. Morphologie der Corpora lutea graviditatis

Die Größenangaben über das Corpus luteum in Beziehung zur Schwangerschaftsdauer differieren - entsprechend der bekannten individuellen Schwankungsbreite - in der Literatur sehr. Bei den Tubargraviditäten wurde in 9 Fällen mit ganz ausgeschältem Gelbkörper ein größter Durchmesser von durchschnittlich 12,7 mm bei einer Schwangerschaftsdauer von 30 bis 67 Tagen nach der letzten Periode und 14 - 53 Tagen nach der Ovulation bis zur Störung der Schwangerschaft festgestellt.

Es findet sich also keine Größenzunahme über den Durchmesser des Corpus luteum menstruationis mit 12 - 15 mm hinaus. Nach NELSON und GREENE ist zur Zeit der höchsten Aktivität des Corpus luteum graviditatis - um den 30. Schwangerschaftstag - auch der größte Durchmesser nachzuweisen, während SEITZ im 3. Schwangerschaftsmonat die größten Gelbkörper mit einem Durchmesser von 18 - 25 mm fand. Nach WATZKA findet bis zum 5. Monat eine Größenabnahme auf 12 mm statt. Bei einer jungen Gravidität fanden HERTIG und ROCK am 29. Tage post menstruationem bereits einen Durchmesser des Corpus luteum von 20 mm. FALKINER beschrieb dagegen am 84. Tag post menstruationem ein Corpus luteum mit 20 mm.

Entsprechend den wechselnden Literaturangaben ist bei den hier untersuchten Gelbkörpern in 8 Fällen festzustellen, daß die Größe nicht der Schwangerschaftsdauer entspricht, so daß eine vorzeitige Regression

anzunehmen ist, wie sie etwa im 5. Monat der normalen Schwangerschaft vorliegt. Nur in 1 Fall findet sich ein Corpus luteum, das mit einem Durchmesser von 20 mm der dort vorliegenden Schwangerschaftsdauer von 53 Tagen entspricht. In dém verbleibenden letzten Fall wurden bei der Operation nur Bruchstücke des Corpus luteum gewonnen.

Die histologische Untersuchung bestätigt an den Corpora lutea graviditatis der Eileiterschwangerschaften ebenfalls verschiedene Regressionsvorgänge. So findet sich in 1 Fall bereits eine Ausfüllung der medianen Cyste und in 2 weiteren Fällen eine weitgehende Obliteration durch ein junges Proliferationsgewebe. Nach ASCHOFF, SEITZ u. a. besteht die zentrale Höhle im Schwangerschaftsgelbkörper bis zum 5. Monat und erst anschließend erfolgt eine bindegewebige Obliteration. Bei den 7 weiteren Corpora lutea liegt ein verschieden breiter bindegewebiger Belag, teils mit schon großkalibrigen Gefäßen, dem Lager der Granulosaluteinzellen auf, während die mediane Cyste zentral einen Hohlraum, in einigen Fällen mit Blutkoagel, enthält. Nach WHITE und Mitarbeitern findet sich nach dem 42. Schwangerschaftstage ein breiter bindegewebiger Wandbelag in der zentralen Höhle des Corpus luteum graviditatis.

Nur in den 5 Fällen von Schwangerschaftsunterbrechung ist die bindegewebige Organisation altersentsprechend.

Bei den Gelbkörpern der ektopischen Schwangerschaften ist das Auftreten des Proliferationsgewebes mit einer vorzeitigen Reorganisation mit möglichem Funktionsrückgang zu erklären.

Die Luteinzellschicht weist bei den Corpora lutea graviditatis der ektopischen Schwangerschaften eine Breite von durchschnittlich 2,9 mm und bei den Schwangerschaftsunterbrechungen von 3,9 mm auf. Dabei sind die verschiedenen Schwangerschaftsdauern von 14 - 53 bzw. 71 und 43 Tagen, außerdem wiederum regressive Vorgänge zu beachten.

Eine Differenzierung der Theka- und Granulosaluteinzellen ist bei den jungen Eileiterschwangerschaften in 8 Fällen, darunter in 2 Fällen sehr deutlich, möglich, während bei den älteren unterbrochenen uterinen Graviditäten die Differenzierung nur in dem 43 Tage alten Fall gelingt. Nach der Literatur ist eine Verminderung der Thekaluteinzellen mit zunehmendem Alter des Corpus luteum graviditatis und ein Fehlen nach dem 5. Monat charakteristisch.

Die Luteinzellen der untersuchten Corpora lutea zeigen in allen Fällen keine Mitosen mehr. Eine Vakuolisierung des Cytoplasmas findet sich mit Ausnahme von 3 Fällen. Es handelt sich hier um in der Aceton-Fixierung herausgelöste lipoide Substanzen.

Die Regressionsvorgänge im Corpus luteum graviditatis beginnen nach FALKINER bereits nach 1 Monat, nach WHITE nach 7 Wochen, nach ASDELL, DELEE, MACKENZIE nach 3 Monaten, während CHAPMAN, DUBREIL, GATENBY und SEITZ eine Rückbildung erst nach 5 Monaten beobachteten. Bei den untersuchten Corpora lutea graviditatis von Tubargraviditäten weisen die geringe Größe, die vermehrte bindegewebige Proliferation bis zur Obliteration der medianen Cyste sowie die Zelldegeneration auf eine vorzeitige Rückbildung hin. Es ist anzunehmen, daß bereits mit oder vor dem Auftreten der klinischen Anzeichen einer Schwangerschaftsstörung das Corpus luteum graviditatis seine Funktion reduziert hat. Bei den 4 Fällen mit intakter Tubargravidität ohne Abort oder Ruptur sowie bei kurzer Anamnese der klinischen Symptomatik einer gestörten ektopischen Gravidität ist zudem eine vorangegangene Störung der Korrelation zwischen Corpus luteum graviditatis und Placenta zu erwägen.

3. Histochemie der Mucoproteide und der alkalischen Phosphatase in den Corpora lutea graviditatis

a) PAS-Reaktion

Mit der Perjodsäure-Schiff-Reaktion wurden in allen untersuchten Corpora lutea graviditatis positive Substanzen nachgewiesen. Es fanden sich feingranuläre Einlagerungen und tropfige kolloidale Einschlüsse im Cytoplasma der Luteinzellen. Gefäßwände und Bindegewebe waren in allen Fällen deutlich positiv dargestellt. Die Ausdehnung der PAS-positiven intrazellulären Substanzen und ihre Intensität waren bei den kurzfristig gestörten Tubargraviditäten besonders ausgeprägt. Ausnahmen bilden ein Fall mit einem nur 1-tägigen Intervall vom wahrscheinlichen Termin des Fruchttodes bis zur Operation, der eine schwache Reaktion aufwies, und ein weiterer Fall mit einem 17-tägigen Intervall, bei dem die Reaktion stark ausfiel. Bei dem Corpus luteum graviditatis der 43 Tage alten uterinen Gravidität ließ sich eine deutlich positive PAS-Reaktion nachweisen. In allen übrigen Corpora lutea graviditatis, sowohl in den Fällen von Tubargraviditäten wie auch bei den Schwangerschaftsunterbrechungen, fanden sich keine wesentlichen Unterschiede einer diffusen und wenig intensiven Verteilung PAS-positiver Substanzen im Cytoplasma.

Bei den PAS-positiven intrazellulären Ablagerungen handelt es sich um ein Mucoproteid.

Mit der PAS-Reaktion wiesen erstmalig 1953 LOPEZ, YASUDO und DOI sowie DESTRO kohlenhydrathaltige Einlagerungen in Luteinzellen nach. Nach LECKIE (1954) bleibt aber eine Andauung mit Diastase ohne Einfluß auf die Färbung der intrazellulären Einschlüsse im Corpus luteum, so daß es sich nicht allein um Glycogen handeln kann. Lipoide sind in gleicher Lokalisation wie die PAS-positiven Substanzen festzustellen. Da aber bei Chloroformextraktion nach LECKIE und bei Acetonfixierung, wie in den vorliegenden Untersuchungen, die PAS-Reaktion unverändert bleibt, sind die PAS-positiven Substanzen nicht

mit reinen Lipoiden identisch. Weiter sind in gleicher Lokalisation mit Hilfe der Tetrazonium-Kupplungsreaktion auch Aminosäuren nachzuweisen. Es ist daher anzunehmen, daß es sich bei den intrazellulär abgelagerten PAS-positiven Substanzen um Mucoproteide handelt.

Eine ansteigende Intensität der Reaktion wird von LECKIE, DAVIES, DEMPSEY und WISLOCKI (1957) als ein mögliches Anzeichen einer Synthese und Speicherung von Keto-Steroiden gedeutet. Auch BALBONI (1956) sieht in den PAS-positiven Zelleischlüssen in Form von Granula und Kolloidtropfen einen Hinweis auf eine inkretorische Funktion der Luteinzellen.

Entsprechend der Ansicht dieser Autoren muß in den hier untersuchten Fällen bei den 4 kurzfristig gestörten Tubargraviditäten, bei denen die PAS-Reaktion besonders deutlich ausfiel, mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß das Corpus luteum im Zeitpunkt des Fruchttodes noch nicht seine Funktion eingestellt hatte.

b) Alkalische Phosphatase-Nachweis

Bei den untersuchten Corpora lutea graviditatis verschiedenen Alters und unterschiedlicher Regressionsstadien fanden sich, während die Gefäße in der Intima eine uniforme Reaktion aufwiesen, deutliche Differenzen der Intensität und Lokalisation des Azofarbstoffs in den Luteinzellen. Eine intensive Reaktion wiesen 3 Corpora lutea mit kurzfristig gestörter Gravidität auf. Ebenfalls intensiv gefärbt waren 3 Corpora lutea mit einer langfristigen Störung der Gravidität. Bei 2 weiteren positiven Fällen lag eine mittlere Störungsdauer vor. Schwach positiv war ein Corpus luteum mit ebenfalls mittlerer Störungsdauer. 1 Fall zeigt ein junges Corpus luteum, bei dem die alkalische Phosphatase intensivst in den einsprossenden Kapillaren nachgewiesen wurde. OBER beschrieb 1950 das gleiche Bild und verwies darauf, daß das Ferment auf diesem Wege mit den Gefäßen in die

Luteinzellschicht gelangt. Bei den Corpora lutea graviditatis der 4 zwischen dem 64. und 77. Tag unterbrochenen Schwangerschaften findet sich gleichmäßig eine mittelstarke Reaktion.

Die auffallende Aktivität und Lokalisation in den Steroidhormon-bildenden Drüsen kann einen Hinweis auf die Mitwirkung des Fermentes bei der hormonalen Funktion dieser Gewebe geben.

OBER stellte eine deutliche Intensität der Phosphatase-Reaktion beim funktionierenden Corpus luteum fest und erwähnt eine beonsers intensive Reaktion bei Zellen in Autolyse während der letzten Zeit der Schwangerschaft und bei gestörter Extrauteringravidität. Er vermutet eine Beteiligung der Phosphatase bei der Überführung von Stoffen aus der Zelle in das Blut und umgekehrt. GÖSSNER verweist ebenfalls auf die besondere Bedeutung der alkalischen Phosphatase beim aktiven Transport durch Grenzflächen. Auf diese Weise mag die Zunahme der Enzymaktivität bei der Rückbildung eine Erklärung finden. Ferner kann bei degenerativen Zellveränderungen eine intensivere histochemische Fermentreaktion durch leichteres Eindringen des Substrates bei einer Permeabilitätsänderung der Zellmembranen erklärt werden. Bei regressiven Veränderungen im Gewebe ist aber auch vermehrt mit Diffusionsartefakten durch Diffusion aller an der Enzymreaktion beteiligten Stoffe und des Reaktionsproduktes selbst zu rechnen. Es ist weiter bekannt, daß die alkalische Phosphatase bei granulierenden Prozessen im Gewebe auftritt, so nach FELL und DANIELLI (1943) bei der Wundheilung am Ort der Synthese fibrillären Eiweisses nach GÖSSNER (1955) in den Kapillaren und Fibroblasten des tuberkulösen Granulationsgewebes und nach OBER (1950) beim Einsprossen von Gefäßen und Fibroblasten in das junge Corpus luteum. So mag auch der erneute Anstieg der Intensität der alkalischen Phosphatasereaktion sich aus der zunehmenden bindegewebigen Proliferation im regressiven Schwangerschaftsgelbkörper erklären.

Die vorliegende Untersuchung einer größeren Serie von Extrauteringraviditäten ergibt in 8 der insgesamt 10 Fälle eine deutlich positive

Reaktion. 3 stark positiv reagierende Corpora lutea von Tubargraviditäten können, da das Intervall vom Fruchttod bis zur Operation nur kurz war, wegen des Zusammenhanges zwischen Inkretion der Luteinzellen und Aktivität der alkalischen Phosphatase als Hinweis auf eine noch bestehende Funktion des Corpus luteum zur Zeit des Fruchttodes gewertet werden. Die 3 weiteren deutlich positiv reagierenden Fälle mit langfristig gestörter Gravidität lassen dagegen eine Beteiligung der alkalischen Phosphatase an den Abbauvorgängen annehmen. Diesen Fällen entsprechen in Intensität der Regression und Reaktion die Corpora lutea graviditatis der normalen Graviditäten, bei denen die Unterbrechung zwischen dem 64. und 77. Tage der Schwangerschaft vorgenommen wurde. Bei 2 positiven Fällen von Tubargravidität mit mittlerer Störungsdauer läßt sich nicht entscheiden, ob die positive Reaktion auf eine noch bestehende Funktion des Corpus luteum zur Zeit des Fruchttodes oder auf die Regression zurückzuführen ist. 1 weiterer Fall von Tubargravidität mit mittlerer Störungsdauer könnte mit einer sehr schwachen positiven Reaktion bei geringen Regressionserscheinungen auf ein Absinken der inkretorischen Leistung des Corpus luteum hindeuten.

## V. Zusammenfassung

Es wurden die Corpora lutea graviditatis von 10 Extrauteringraviditäten und 5 Schwangerschaftsunterbrechungen aus medizinischer Indikation histologisch und histochemisch mit der PAS-Reaktion und der Azokupplungsreaktion zum Nachweis der alkalischen Phosphatase untersucht.

Die 10 Extrauteringraviditäten hatten eine Schwangerschaftsdauer von 30 bis 67 Tagen post menstruationem und 14 bis 53 Tagen post ovulationem; von der letzten Periode bis zur Operation vergingen 40 bis 108 Tage, so daß die Frucht 1 bis 58 Tage abgestorben war. Von den 5 Schwangerschaftsunterbrechungen waren 4 zwischen dem 64. und 77. Tag vorgenommen, eine Radikalexstirpation erfolgte am 43. Tag der Schwangerschaft.

Die PAS-Reaktion zum Nachweis von Mucoproteiden wurde nach der Methode von MC MANUS und HOTCHKISS durchgeführt. Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase erfolgte mit der Azokupplungsreaktion nach MENTEN, JUNGE, GREEN, modifiziert von FRIEDMAN und SELIGMAN mit Mono-Natrium-alpha-Naphthylphosphat als Substrat, Echtrotsalz TR als Diazoniumsalz und Veronal-Acetat-Puffer bei pH 9,2.

Morphologisch wiesen die Gelbkörper der Extrauteringraviditäten Regressionserscheinungen mit einer Verkleinerung auf einen Durchmesser von durchschnittlich 12,7 mm auf, was einer Rückbildung im 5. Schwangerschaftsmonat entsprechen würde. In der medianen Cyste lag eine bindegewebige Organisation mit unterschiedlich starker Obliteration vor. Die Corpora lutea der 5 Schwangerschaftsunterbrechungen zeigten altersentsprechende bindegewebige Proliferation und Rückbildung.

Histochemisch wurden PAS-positive Substanzen in verschiedener Intensität und Verteilung in den Luteinzellen nachgewiesen. Die Reak-

tion war bei den kurzfristig abgestorbenen Extrauteringraviditäten und bei dem 43 Tage alten Corpus luteum einer uterinen Gravidität am intensivsten. Das ergibt einen Hinweis auf die Steroidsynthese oder -speicherung und noch bestehende inkretorische Funktion des Corpus luteum.

Die histochemische Bestimmung der alkalischen Phosphatase bei 15 Corpora lutea graviditatis verschiedener Funktions- und Regressionszustände ergab das Ferment in den Luteinzellen aller untersuchten Gelbkörper in verschiedener Intensität und Lokalisation.

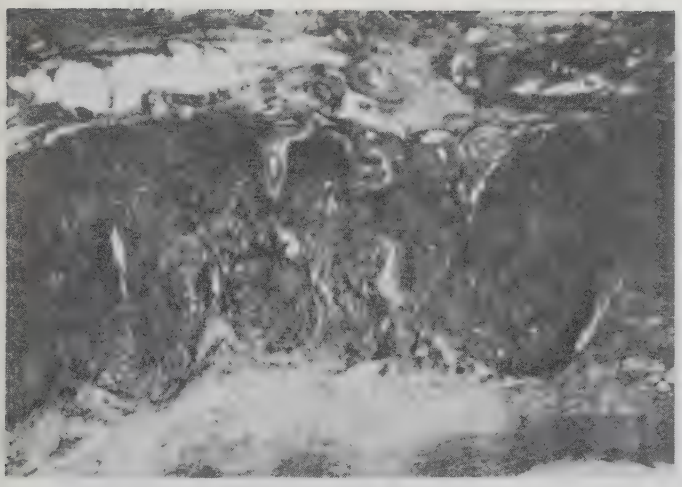
Die Reaktion war bei Gelbkörpern von kurzfristig gestörten Graviditäten sehr intensiv. Eine schwache Reaktion zeigte das Corpus luteum bei länger gestörter Schwangerschaft. Bei noch weiter zurückliegendem Fruchttod zeigte sich wiederum eine starke Reaktion der alkalischen Phosphatase. Die Fälle von 5 Schwangerschaftsunterbrechungen wiesen eine gleichmäßige mittlere Intensität der alkalischen Phosphatase-Reaktion auf.

Die intensive Reaktion bei den nur kurzfristig gestörten jungen Graviditäten kann einen Hinweis auf eine Beteiligung des Ferments an der Steroidhormon-Synthese im Gelbkörper des Blütestadiums ergeben.

Als Erklärung für die starke Intensität der Fermentreaktion in den regressiv veränderten Corpora lutea graviditatis der langfristig gestörten Schwangerschaften werden eine Beteiligung des Enzyms an den aktiven Transportvorgängen, eine Permeabilitätsänderung geschädigter Zellmembranen, sowie schließlich eine Mitwirkung des Enzyms bei der bindegewebigen Umwandlung der Corpora lutea graviditatis erwogen.

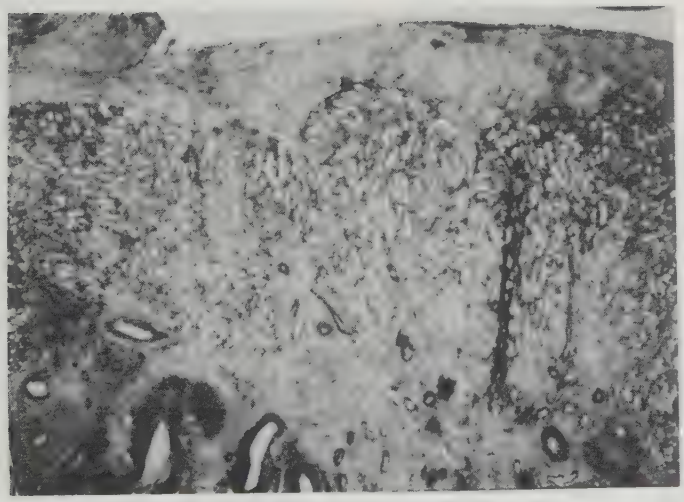
Damit ergeben die klinischen, morphologischen und histochemischen Untersuchungen einen Einblick in die Funktion des Schwangerschaftsgelbkörpers bei gestörter Tubargravidität und bei jungen uterinen Schwangerschaften.

# Anhang



Alkalische Phosphatase im Luteingewebe.
Nachweis mit Echtrotsalz TR

Alkalische Phosphatase in den Gefäßen der Luteinzellschicht
Nachweis mit Echtrotsalz TR



PAS-Reaktion nach Mc Manus und Hotchkiss
im Luteingewebe

Tabelle 1

Literaturübersicht histochemischer Enzymnachweise

| Ferment | Follikel: Luteinzellen Corpus luteum | Follikel: Theka | Follikel: Granulosa | Species | Autor | Jahr |
|---|---|---|---|---|---|---|
| I. Oxydoreduktasen | | | | | | |
| 1. Dehydrogenasen | | | | | | |
| Succinodehydrogenase | + | | + | Mensch Kaninchen Ratte | Padykula | 1952 |
| | | | | | Meyer Mc. Shan Foraker u. M. | 1953 |
| | | + | + | Maus | Bernstorf | 1959 |
| | | ++ | ++ | (bei Oestradiolgabe) | | |
| | + | ++ | | Hund | Nachlas u. M. | 1957 |
| | | (+) (bei Atresie) | | | | |
| | ++ | | + | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| 2. Oxydasen | | | | | | |
| Nadioxydase | - | Th. ext. - Th. int. + | ++ | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| Histaminoxydase | - | (+) | | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| II. Hydrolasen | | | | | | |
| 1. Phosphatasen | | | | | | |
| a. Phosphomonoesterasen | | | | | | |
| a'. Unspezifische alkalische Phosphatase s. Tabelle 2 | | | | | | |
| b'. Saure Phosphatase | | ++ | | Drosophila melanogaster | Yao | 1950 |
| | | ++ | | niedere Vertebraten | Arvy | 1954 |
| | | + | | Maus | Delsol Chaux | 1954 |
| | ++ C.l. grav. +++ | + | ++ | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| c'. Spezif. Phospho- | | | | | | |

| | Ferment | Luteinzellen Corpus luteum | Follikel Theka | Follikel Granulosa | Species | Autor | Jahr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a''. | 5-Nucleotidase | +++ | | +++ | Kaninchen | Takeuchi Nogami | 1954 |
| | | Gefäße + | Gef. + | (+) | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| b''. | Riboflavin-nucleotidase | ++ | | ++ | Kaninchen | Takeuchi Nogami | 1954 |
| c''. | Glucose-6-phosphatase | +++ | | ++ | Kaninchen | Takeuchi Nogami | 1954 |
| b. | Polyphosphatasen | | | | | | |
| | Adenosintri-phosphatase | Gefäßverzweigungen im Ovar sichtbar | | Prim. foll. | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| c. | Phosphoamidase | + | | + | Mensch | Neumann u. M. | 1954 |
| 2. | Carboxylsäure-esterasen | | | | | | |
| a. | Esterasen | | | | | | |
| a'. | α-Naphthol-acetylesterase | + | Th. int. + | Graaf. Foll. (+) | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| | | C. l. grav. ++ | | + | Ratte | Chessick | 1953 |
| | | | - | - | Mensch | | |
| | | | - | - | Maus | Malty Bourne | 1954 |
| b'. | AS-Naphthol-acetyl-esterase | | | + | Ratte | Chessick | 1953 |
| | | | - | - | Mensch | | |
| | | | - | - | Maus | Malty Bourne | 1954 |
| | | | | Graaf. Foll. + | Ratte | Chessick | 1953 |
| c'. | α-Naphthol-butyrylesterase | | + | + | Ratte | Hunter Kneiske | 1957 |

Tabelle 1 (Fortsetzung)

| | Ferment | Luteinzellen Corpus luteum | Follikel Theka | Follikel Granulosa | Species | Autor | Jahr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| b. a'. | Cholinesterasen Acetyl- und Butyrylcholin-esterase | | ++ Liquor foll. + | | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| b'. | Acetylthio-cholin-esterase | + C.l. grav. ++ | | | Kaninchen | Arvy | 1959 |
| c'. | Butyrylcholin-esterase | C.l. grav. + | Th. int. ++ Th. ext. + atret. Foll. + | innere Schicht + post. ovulat. | Meerschw. Maus | Grieten | 1955 |
| c. | Tweenesterase | ++ | | | Ratte | Gomori | 1944 |
| 3. | Glycosidasen β-Glucuronidase | +++ | + | + | Ratte | Seligman Fishman Baker | 1954 1956 |
| III. | Verschiedene Enzyme | | | | | | |
| 1. | Transferasen Amylo-1,4-1,6-transglucosidase | C.l. grav. ++ | Prim. Foll. + | (+) | Kaninchen | Takeuchi | 1958 |
| 2. | Lyasen-Syntheasen Carboanhydrase | | ++ | | Kaninchen | Arvy | 1959 |

Tabelle 2

## Übersichtstabelle über die alkalische Phosphatase im Ovar

| Species | Follikel Th. | Follikel Gran. | Corp. l. m. Th. | Corp. l. m. Gran. | Corp. l. gr. Th. | Corp. l. gr. Gran. | Gefäße | Alters-stadium | Autor | Jahr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mensch | | | | | + | - | | 1 Tag | Corner | 1944 |
| | | | | | - | - | | 5 Tage | | |
| | | | | | - | - | | 8 Tage | | |
| | + | + | | | | | + | Follikel | Genesi | 1953 |
| | | | + | | | | + | C. l. m | | |
| | Th. int. + | | | | | | | reifend. Follikel | Alamani Mangione | 1956 |
| | | | | + | | | | junges C. l. m. | | |
| | | | | (+) | | | | regressiv. C. l. m. | | |
| | Th. int. + | - | | | | | + | reifend. Follikel | Ober | 1950 |
| | | | | | | + | + | C. l. gr. | | |
| | | | | | | ++ | | C. l. gr. in Funktion | | |
| | | | | | | +++ | | regressiv. C. l. gr. | | |
| | | | + | + | | | + | C. l. m. | | |
| | | | - | | | | | C. l. m. wenige Tage nach Follikelsprung | | |
| | + | | | | | | + | reifend. Follikel | Mc Kay Pinkerton | 1961 |
| | | | + | + | | | | ab 18. Cycl. tag | Hertig Danziger | |
| | | | | | + | + | | C. l. grav. | | |

Tabelle 2 (Fortsetzung)

| Species | Follikel Th. | Follikel Gran. | Corp. l. m. Th. | Corp. l. m. Gran. | Corp. l. gr. Th. | Corp. l. gr. Gran. | Gefäße | Alters-stadium | Autor | Jahr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Affe | | | ++ | ++ | | | | 24 Std. nach Foll.-sprung | Corner | 1944 |
| Rind | + | + | + | + | | | | Cycl.-Verlauf | Moss<br>Wrenn<br>Sykes | 1954 |
| Schaf | Th. int. + | | | + (2-3 Tage) | | | | reifend. Follikel<br>C. l. m. 10 Tage nach Foll.-sprung | Hadek | 1958 |
| Schwein | Th. int. ++ | - | | | | | | reifer Foll. | Corner | 1944 |
| Hund | Th. int. ++ | - | | | | | | reifer Foll. | Corner | 1944 |
| Kaninchen | Th. int. - | ++ | | | | | | reifer Foll. | Corner | 1944 |
| | | | + | | | | | C. l. m. 8 Std., 3, 5 Tage | | |
| | | | - | | | | + | C. l. m. | Gomori | 1941 |
| | | ++ | | ++ | | ++ | | Follikel<br>C. l. m. + gr. reifend. Foll. | Arvy<br>Corner | 1959<br>1944 |
| Meer-schwein. | Th. int. ++ | + | | | | | | | | |
| Hamster | | | | ++ | | | | C. l. m. | Knigge<br>Leathem | 1956 |

Tabelle 2 (Fortsetzung)

| Species | Follikel Th. | Follikel Gran. | Corp.l.m. Th. | Corp.l.m. Gran. | Corp.l.gr. Th. | Corp.l.gr. Gran. | Gefäße | Alters-stadium | Autor | Jahr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ratte | | | + (wechselnd je nach Alter | | | | + | C.l.-Generationen | Deane<br>Augustin<br>Heidenreich<br>Thilo<br>Ford<br>Hirschmann | 1952<br>1954<br><br><br>1955 |
| | | ++ | | | | | | atret. Follikel | Deane | 1952 |
| Maus | + | ++ | + | | | | + | Follik. C.l.<br>atret. Follikel | Moog<br>Wenger | 1952 |
| | | | | | | | | | Wimsatt | 1949 |
| Fledermaus (Myotis lucifugus | Zona pelucida + | | | | | | + | C.l. | | |

Tabelle 3

Übersicht über Anamnese und Klinik der untersuchten Fälle

| Fall | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Alter | 29 J. | 28 J. | 35 J. | 21 J. | 28 J. | 37 J. | 29 J. | 26 J. | 19 J. | 30 J. |
| Periode | 32/4 | 28/6 | 28/6 | 28/6 | 28/3 | 28/3 | 28/3 | 30/4 | 28/5 | 28/7 |
| Schwangerschaften | 1 | 3 | 6 | - | 4 | 3 | 1 | - | 1 | - |
| Geburten | - | 2 | 6 | - | 2 | 2 | 1 | - | 1 | - |
| Aborte | 1 | 1 | - | - | 2 | - | - | - | - | - |
| Extrauteringraviditäten | - | - | - | - | - | 1 (1959) | - | - | - | - |
| Jetzige Anamnese | | | | | ca. | | | | | ca. |
| Letzte Periode | 18.11. | 16.4. | 1.10. | 17.12. | 15.8. | 14.12. | 4.1. | 6.4. | 5.6. | 4.3. |
| Errechneter Konzept.-term. | 4.12. | 30.4. | 15.10. | 31.12. | 29.8. | 28.12. | 18.1. | 21.4. | 19.6. | 18.3. |
| Operationstermin | 4.1. | 20.6. | 5.12. | 4.4. | 14.10. | 23.1. | 10.4. | 24.5. | 1.8. | 5.5. |
| Störung der Gravidität (Schwangerschaftstag) | | | | | | | | | | |
| post menstruationem | 30. | 55. | 54. | 67. | 47. | 31. | 38. | 46. | 54. | 61. Tag |
| post conceptionem | 14. | 41. | 40. | 53. | 33. | 17. | 24. | 31. | 40. | 47. Tag |
| Schwangerschaftsdauer (letzte Periode - Operation) | 47 | 65 | 65 | 108 | 60 | 40 | 96 | 48 | 57 | 62 Tage |
| Schwangerschaftsdauer (Konzept.-term.-Operation) | 31 | 51 | 51 | 94 | 46 | 26 | 82 | 33 | 43 | 48 Tage |
| Intervall zw. Störung und Operation | 17 | 10 | 11 | 41 | 13 | 9 | 58 | 2 | 3 | 1 Tage |
| Schwangerschaftsdauer v. Konzeptionstermin b. Störung | 14 | 41 | 40 | 53 | 33 | 17 | 24 | 31 | 40 | 47 Tage |
| Gynäkologischer Befund: | | | | | | | | | | |
| Tu. bzw. Resistenz | re | re | re | li | re | re | re | re | li | re |
| Froschtest | ./. | ./. | + | ./. | ./. | ./. | ./. | ./. | ./. | ./. |
| Douglas-Punktion | + | ./. | ./. | ./. | + | + | + | + | ./. | + |
| Operationsbefund | T.gr. Fruchtsack erbsengroß | T.gr. | T.ab. | T.ab. | T.ab. | T.ab. | T.rpt. | T.gr. | T.ab. | T.ab. Fet (2,2 cm) i. Fruchtsack |

Tabelle 3 (Fortsetzung)

| Fall | A | B | C | D | E | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Alter | 43 J. | 34 J. | 25 J. | 31 J. | 28 J. | |
| Periode | 28/5 | 25/4 | "regelmäßig" (28/4) | "regelmäßig" (28/4) | vierwöchentlich (28/4) | |
| Schwangerschaften | 6 | 3 | 3 | - | - | |
| Geburten | 6 | 2 | 3 | - | - | |
| Aborte | - | 1 | - | - | - | |
| Jetzige Anamnese | | | | | | |
| Letzte Periode | 23.1. | 21.12. | 20.9. | 9.9. | 8.9. | |
| Errechneter Konzeptionstermin | 6.2. | 2.1. | 4.10. | 23.9. | 22.9. | |
| Operationstermin | 21.3. | 20.3. | 16.12. | 26.11. | 3.12. | |
| Schwangerschaftsdauer (letzte Periode - Operation) | 57 | 89 | 87 | 78 | 86 | Tage |
| Schwangerschaftsdauer (Konzeptionstermin-Operation) | 43 | 77 | 73 | 64 | 72 | Tage |

**Tabelle 4**

Übersicht über Klinik, morphologische und histochemische Befunde

| Fall | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | A | B | C | D | E |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Schwangerschaftsdauer (letzte Periode-Operat.) | 47 | 65 | 65 | 108 | 60 | 40 | 96 | 48 | 57 | 62 | 57 | 89 | 87 | 78 | 86 |
| Schwangerschaftsdauer (Konzeptionstermin - Operation) | 31 | 51 | 51 | 94 | 46 | 26 | 82 | 33 | 43 | 48 | 43 | 77 | 73 | 64 | 72 |
| Intervall zw. Störung und Operation | 17 | 10 | 11 | 41 | 13 | 9 | 58 | 2 | 3 | 1 | | | | | |
| Schwangerschaftsdauer v. Konzeptionstermin bis Störung | 14 | 41 | 40 | 53 | 33 | 17 | 24 | 31 | 40 | 47 | | | | | |
| Morphologie des Corpus luteum | | | | | | | | | | | | | | | |
| Größe (Durchmesser in mm) | 14 | 10 | 13 | 20 | 9 | - | 11 | 14 | 12 | 13 | 13 | 11 | 15 | 16 | 13 |
| Dicke der Luteinschicht (in mm) | 4 | 2-3 | 4 | 1-1,5 | 1 | 2 | 4-5 | 3-4 | 4 | 3-5 | 6 | 2,5 | 4,5 | 3-5 | 4 |
| Fältelung | +++ | + | +++ | (+) | (+) | (+) | ++ | ++ | +++ | ++ | (+) | (+) | +++ | +++ | + |
| Differenzierung in Theka- u. Granulosaluteinzellen | ++ | - | + | + | - | + | ++ | + | + | + | + | - | - | - | - |
| Vakuolisierung | + | +++ | (+) | - | - | +++ | - | (+) | ++ | + | (+) | + | ++ | + | + |
| Bindegewebige Durchsetzung | + | ++ | +++ | (+) | +++ | ++ | +++ | ++ | + | +++ | (+) | ++ | +++ | ++ | + |
| Bindegeweb. Organisation d. medianen Cyste | +++ | + | ++ | (+) | (+) | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ | ++ |

Tabelle 4 (Fortsetzung)

| Fall | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | A | B | C | D | E |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| PAS-Reaktion | | | | | | | | | | | | | | | |
| Luteingewebe | ++(+) | +++ | + | (+) | + | ++ | + | ++ | ++ | + | ++ | (+) | + | + | + |
| Bindegewebe und Gefäße | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Alkalische Phosphatase-Nachweis | | | | | | | | | | | | | | | |
| Luteinschicht: | | | | | | | | | | | | | | | |
| Peripher | ++ | +++ | +++ | ++ | + | (+) | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Cystenwärts | ++ | ++ | ++ | (+) | + | (+) | ++ | ++ | ++(+) | + | - | + | ++ | ++ | + |
| Gefäße | + | +++ | + | + | + | +++ | + | ++ | +++ | + | - | ++ | + | ++ | + |

## Literatur


| | | |
|---|---|---|
| Alamani, V., Mangione, P. | Riv. Ostetr. (Firenze) 11 S. 689 | (1956) |
| Andreoli, C. | Fol. endocrinol. (Pisa) 7 S. 65 | (1954) |
| Aoki, I., Fujii, K., Hoshino, K. | J. Jap. Obstetr. a. Gynecol. Soc. (Engl. Ed.) 3 S. 169 | (1957) |
| Arias-Stella, J. | Arch. of Path. (Lima Peru) 58 S. 112 | (1954) |
| Arvy, L. | C. R. Ass. Anat. (Gênes) S. 836 | (1954) |
| Arvy, L. | Zeitschr. f. Zellforschung 51 S. 406 | (1960) |
| Aschoff, L. | Lectures on Pathology P. B. Hoeber Inc. - New York | (1924) |
| Asdell, S. A. | Physiol. Rev. 8 S. 313 | (1928) |
| Augustin, E., Heidenreich, O., Thilo, A. | Arch. Gynäk. 184 S. 281 | (1954) |
| Axelrod, B. | J. biol. chem. 172 S. 1<br>176 S. 295 | (1948) |
| Baer, K. E. von | De ovi mammalium et hominis genesis epistola - Leipzig | (1827) |
| Balboni, G. C. | Arch. ital. Anat. e Embriol. 61 S. 373 | (1956) |
| Baldwin, E. | An Introduction to Comparative Biochemistry University Press Cambridge | (1937) |
| Bassett, D., Dempsey, E. W. | Endocrinology 34 S. 27 | (1943) |
| Bernstorf, E. C. | Anat. Rec. 133 S. 362 | (1959) |
| Berthelsen, H. G. | Acta obstetr. scand. (Stockholm) 36 S. 226 | (1957) |

| | | |
|---|---|---|
| Bielecki, A., Urbanowicz, H. | Ginek. pol. 30 S. 161 (polnisch mit englischer Zusammenfass.) | (1959) |
| Bischoff, Th. W. | Entwicklungsgeschichte der Säugetiere und des Menschen | (1842) |
| Bobeck, S. | Acta obstetr. scand. (Stockholm) 36 S. 499 | (1957) |
| Boenig, H. | Leitfaden der Entwicklungsgeschichte des Menschen VEB Georg Thieme - Leipzig | (1957) |
| Bourgarel, R., Ezes, H. | Ann. d'Endocrin. 13 S. 774 | (1952) |
| Cagnazzo, G., Salvadori, B. | Monit. ostet. ginec. 30 S. 252 | (1958) |
| Castro, M. L. M. de | Ann. brasil. Ginecol. 45 S. 331 (portugiesisch mit franz., engl., dtsch. Zusammenfassung) | (1958) |
| Chapman, W. L. | Long Island M. J. 2 S. 218 | (1908) |
| Chessik, R. D. | J. Histochem. Cytochem. 1 S. 471 | (1953) |
| Clark, J. G. | Arch. f. Anat. u. Physiologie Anatom. Abteilung S. 95 Diss. | (1898) |
| Corner, G. W. | Science 100 Nr. 2595 S. 270 | (1944) |
| Corner, G. W. | Cytology of the ovum, ovary and fallopian tube in: Cowdry's Special Cytology 2. Aufl. P. B. Hoeber Inc. New York - Band 3 S. 1567 | (1932) |
| Cramer, H., Klöss, O. | Arch. Gynäk. 185 S. 739 | (1955) |
| Dal Collo, P. G. | Arch. di ostetr. e ginecol. 11 2 S. 49 - 9 S. 400 | (1924) |
| Davies, H. G., Dempsey, E. W., Wislocki, G. B. | J. Histochem. a. Cytochem. 5 S. 584 | (1957) |
| Danielli, J. F. | J. exp. Biol. 22 S. 110 | (1946) |
| Danielli, J. F. | General Cytochemical Methods 1 S. 423 | (1958) |

| | | |
|---|---|---|
| Davison-Reynolds, M.M., Barrnets, R.D., Lemon, H.M. | Enzymol. 17 S.145 | (1955) |
| Deane, H.W. | Amer.J.Anat. 91 S.363 | (1952) |
| Delee, J.B., Greenhill, J.P. | Principles and Practice of Obstetrics W.B. Saunders Co. Philadelphia | (1947) |
| Delsol, M., Chaux, A. | C.R. Soc.Biol. 148 S.1180 | (1954) |
| Destro, F. | Ann.Ostet. 75 S.1323 | (1953) |
| Dhom, G., Mende, H.J. | Virchow Arch. 328 S.337 | (1956) |
| Dixon, M., Webb, E.C. | Brit.Med.Bull. 9 S.110 | (1953) |
| Dixon, M., Webb, E.C. | Enzymes Longmans - London | (1958) |
| Dubreil, J. | C.rend.Soc.Biol. 138 S.699 | (1944) |
| Duspiva, F. | Enzymatische Histochemie in: Hoppe-Seyler/Thierfelder Handbuch der physiol.- u. pathol-chemischen Analyse Bd.2: Allgemeine Untersuchungs-methoden Springer - Berlin/Göttingen/ Heidelberg S.345 | (1955) |
| Ehrlich, P. | Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus Hirschwald - Berlin | (1885) |
| Everett, J.W. | Amer.J.Anat. 77 S.293 | (1945) |
| Falkiner, N.N. | Irish J.M.Sc. 8 S.1 | (1933) |
| Fell, H.B., Danielli, J.F. | Brit.J.exp.Path. 24 S.196 | (1943) |
| Fischer, E. | (zitiert nach Richterich s.u.) | |
| Fishman, W.H., Baker, J.R. | J.Histochem.Cytochem.4 S.570 | (1956) |
| Foraker, A.G., Denham, S.W., Johnson, M.H. | Arch.Path. (Chikago) 55 S.147 | (1953) |
| Foraker, A.G., Denham, S.W., Mitchell, D.D. | Science 117 S.449 | (1953) |

| | | |
|---|---|---|
| Ford, D.H., Hirschmann, A. | Anat. Rec. 121 S. 531 | (1955) |
| Fraenkel, A. | Arch. f. Gynaek. (Berlin) 68 S. 438 | (1903) |
| Frederiksen, Th. | Acta obstetr. scand. (Stockholm) 38 S. 262 | (1959) |
| Friedman, O.M., Seligman, A.M. | J. Amer. chem. Soc. 72 S. 624 | (1950) |
| Funallet, J.C. | Acta ginecol. (Madrid) 9 S. 257 | (1958) |
| Furuhjehn, M. | Acta endocrinol. (Kopenhagen) 17 S. 85 | (1954) |
| Gatenby, J.B. | Proc. R. Irish Acad. 36 S. 65 | (1924) |
| Genesi, M. | Minerva ginec. (Torino) 5 S. 302 | (1953) |
| Gersh, J. | Arch. Path. 47 S. 99 | (1949) |
| Glasser | (zitiert nach Schnyler s.u.) | |
| Glick, D., Biskind, G.R. | J. biol. Chem. (Baltimore) 110 S. 583 | (1935) |
| Gössner, W. | Verh. dtsch. Ges. Path. 39 S. 152 | (1955) |
| Gössner, W. | Histochemie 1 S. 43 | (1958) |
| Gomori, G. | Proc. Soc. exper. Biol. and Med. (New York) 42 S. 23 | (1939) |
| Gomori, G. | J. cell. comp. Physiol. 17 S. 71 | (1941) |
| Gomori, G. | (zitiert nach Arvy 1960) | (1945) |
| Gomori, G. | J. Lab. clin. Med. 35 S. 802 | (1950) |
| Gomori, G. | Personal communication to Pearse (s. Pearse 1960 S. 404) | (1951) |
| Gomori, G. | J. Lab. clin. Med. 37 S. 520 | (1951) |
| Gomori, G | Microscopic Histochemistry Chicago University Press Chicago | (1952) |
| Granzow, J. | Med. Welt S. 528 | (1935) |
| Granzow, J. | Dtsch. med. Wschr. 1 S. 13 | (1936) |

| | | |
|---|---|---|
| Graumann, W., Neumann, K.H. | Handbuch der Histochemie Bd. VII 1: Enzyme Gustav Fischer Verlag Stuttgart | (1960) |
| Greene, R.R., Nelson, W.W. | Amer. J. Obstetr. 76 S. 66 | (1958) |
| Greenhill, J.P. | (zitiert nach Schnyler s.u.) | |
| Grieten, J. | C.R. Soc. Biol. (Paris) 149 S. 826 | (1955) |
| Grogg, E., Pearse, A.G.E. | Nature (London) 170 S. 578 | (1952) |
| Hadek, R. | Amer. J. vet. Res. 19 S. 873 | (1958) |
| Halban, J., Seitz, L. | Biologie und Pathologie des Weibes . Bd. VI 2: Physiologie der Schwangerschaft Ovarien und Schwangerschaft (E. Kehrer) Verlag Urban und Schwarzenberg Berlin/Wien S. 727 | (1925) |
| Hannibal, M.J., Nachlas, M.M. | J. biophys. biochem. Cytol. 5 S. 279 | (1959) |
| Haselhorst, G. | in: Biologie und Pathologie des Weibes Geburtshilfe 3. Teil, Bd. IX Extopische Schwangerschaft Verlag Urban und Schwarzenberg Berlin/München/Innsbruck/Wien S. 625 | (1953) |
| Hegenauer, H. | Zbl. Gynäk. 75 S. 849 | (1953) |
| Herrmann, U., Matter, R. | Geburtshilfe und Frauenheilkunde 16 S. 690 | (1956) |
| Hertig, A.T., Rock, J. | Contr. Embryol., Carnegie Inst. 29 S. 127 | (1941) |
| Hertig, A.T. Rock, J. | Amer. J. Obstetr. 58 | (1949) |
| Hirsch-Hoffmann, H.U. | Klin. Wschr. 2 S. 1791 | (1932) |
| Hoffmann-Ostenhof, O. | Adv. Enzymol. 4 S. 219 | (1953) |
| Hoffmann-Ostenhof, O. | Enzymologie Verlag Springer - Wien | (1954) |

| | | |
|---|---|---|
| Hunter, R.L., Kneiske, K.M. | J. Histochem. Cytochem. 5 S. 154 | (1957) |
| Jacobi, F. | Ovarian histochemistry in: Zuckerman, S. - The Ovary Academic Press New York/London chapt. 3 S. 189 | (1962) |
| Jacobi, F., Martin, B.F. | Nature (London) 163 S. 875 | (1949) |
| Jalouka, U.V., Sĭkl, O. | Ser. med. Fac. Med. (Brunen) 31 S. 123 (Tschechisch mit engl. Zusammenfassung) | (1958) |
| Jones, H.W., Weil, G.P. | Amer. Med. Ass. J. Clin. Endocr. (Springfield) 11 S. 434 | (1951) |
| Kehrer, E. | (zitiert nach Halban-Seits s.o.) | |
| Klingenberg, H. | Arch. Gynäk. 167 S. 300 | (1938) |
| Knigge, K.M., Leathem, J.H. | Anat. Rec. 124 S. 679 | (1956) |
| Koff, Tulsky | Fertility and Sterility 8 S. 118 | (1957) |
| Lambeth, S. | Amer. J. Obstetr. 69 S. 191 | (1955) |
| Leckie, F.H. | J. Obstetr. (London N.S.) 61 S. 722 | (1954) |
| Leuthardt, F. | Lehrbuch der Physiologischen Chemie, 13. Auflage Verlag Walter de Gruyter & Co. Berlin | (1957) |
| London, M., Hudson, P.B. | Biochem. Biophys. Acta 17 S. 485 | (1955) |
| Lopez, R. | Giorn. Ostetr. 17 S. 47 | (1953) |
| Losereit, G. | Inaug. Diss. Königsberg/Pr. | (1939) |
| Mackenzie, W.R., Malone, Th.E. | J. of Morphology 100 S. 1 | (1957) |
| Malty, H.A., Bourne, G.H. | Acta anat. (Basel) 21 S. 249 | (1954) |
| Manheimer, L.H., Seligman, A.M. | J. nat. Cancer Inst. 9 S. 181 | (1949) |

| | | |
|---|---|---|
| Marcotty, A. | Arch. Gynäk. (Berlin) 103 S. 63 | (1914) |
| Martius, H. | Lehrbuch der Geburtshilfe 4. Auflage, Georg Thieme Stuttgart - S. 173 | (1959) |
| Mc. Elroy, W. D. | Quart. Rev. Biol. 22 S. 25 | (1947) |
| Mc. Kay, D. G., Pinkerton, J. H. M., Hertig, A. T., Danziger, S. | Obstetr. Gyn. 18 S. 13 | (1961) |
| Mc. Manus, J. F. A., Hotchkiss, R. D. | Nature 158 S. 202 | (1946) |
| Melinkoff, E. | Amer. J. Obstetr. Gynec. 60 S. 437 | (1950) |
| Menten, M. L., Junge, J., Green, H. | J. biol. Chem. 153 S. 471 | (1944) |
| Meyer, R. | Zbl. Gynäk. 48, 2 S. 1570 | (1924) |
| Meyer, R. | Arch. Gynäk. (Berlin) 93 S. 345 | (1911) |
| Meyer, R. K., Mc. Shan, W. H. | (zitiert nach Arvy 1960 s. o.) | |
| Meyerhof, O., Green, H. | J. biol. Chem. 178 S. 655 | (1949) |
| Meyerhof, O., Green, H. | J. biol. Chem. 183 S. 377 | (1950) |
| Meyerhof, O., Green, H. | J. biol. Chem. 197 S. 347 | (1952) |
| Michaels | (zitiert nach Schnyler s. u.) | |
| Miculicz-Radecki, F. von | Arch. Gynäk. 91 S. 263 | (1910) |
| Miculicz-Radecki. F. von | Münchner med. Wschr. 69 S. 851 | (1922) |
| Miller, J. | (zitiert nach Halban-Seitz s. o.) | |
| Mittasch, A. | Über Katalyse und Katalysatoren in Chemie und Biologie Verlag Julius Springer - Berlin | (1936) |
| Moog, F., Wenger, E. L. | Amer. J. Anat. 90 S. 339 | (1952) |
| Morton, R. K. | Nature (London) 172 S. 65 | (1953) |
| Morton, R. K. | in: Methods in Enzymology Acad. Press Inc. - New York Bd. II S. 556 | (1955) |

| | | |
|---|---|---|
| Moss, S., Wrenn, T.R., Sykes, J.F. | Anat. Rec. 120 S.409 | (1954) |
| Mowry, R.W. | Bull. int. Ass. med. Mas. 30 S. 95 | (1949) |
| Nachlas, M.M., Tsou, K.-G., De Souza, E., Cheng, C.-S. Seligman, A.M. | J. Histochem. Cytochem. 5 S.420 | (1957) |
| Nelson, W.W., Greene, R.R. | Internat. Abstracts of Surgery 97 S.1 | (1953) |
| Neumann, K., Oehlert, G., Hansmann, H. | Arch. Gynäk. 184 S.414 | (1954) |
| Niedzinska-Czerwińska | Ginek. pllska 28 S.571 | (1957) |
| Nowak. E. | J. Am. M. Ass. 67 S.1285 | (1916) |
| Nowak, E. | Gynecologic and obstetric Pathology with clinical and endocrine Relations W.B. Saunders Company 3. Auflage Philadelphia/London S. 294; 454 | (1952) |
| Ober, K.G. | Klin. Wschr. 28 S.9 | (1950) |
| Padykula, H.A. | Amer. J. Anat. 91 S.107 | (1952) |
| Pearse, A.G.E. | J. clin. Path. 4 S.1 | (1951) |
| Pearse, A.G.E. | Histochemistry J. & A. Churchill LTD London, S.384 | (1960) |
| Perrin, J. | J. Chem. phys. 3 S.102 | (1907) |
| Pinto, C. | Ann. ostet. Gin. 27 S.476 | (1905) |
| Rabl, H. | Anatom. Hefte 11 S.112 | (1899) |
| Richterich, R. | Enzymopathologie Springer Verlag Berlin/Göttingen/Heidelberg | (1958) |
| Robison, R. | Biochem. J. 17 S.286 | (1923) |
| Schnyler, W.B.J. | Amer. J. Obstetr. 71 S.1132 | (1956) |

| | | |
|---|---|---|
| Schultze, K.W. | Zbl. Gynäk. 74 S.1041 | (1952) |
| Seitz, L. | Arch.Gynäk. (Berlin) 77 S.203 | (1906) |
| Seitz L., Amreich, A. | Biologie und Pathologie des Weibes, 3.Teil, Bd.IX Verlag Urban und Schwarzenberg Berlin:München/Innsbruck/Wien S.625 | (1953) |
| Seligman, A.M., Tsou, K.-G., Rutenberg, S.H., Cohen, R.B. | J.Histochem.Cytochem. 2 S.209 | (1954) |
| Seligman, A.M., Chauncey, H.H., Nachlas, M.M. | Stain Technol. 26 S.19 | (1951) |
| Simon, J. | Bull.Soc.roy.Belg.Gynée et Obstétr. N.S. 25 S.126 | (1955) |
| Sobotta, J. | (zitiert nach Clark s.o.) | |
| Spiegler, R. | Med.Klin. S.771 | (1952) |
| Stöhr, Ph., Möllendorff, W.von Goerttler, K. | Lehrbuch der Histologie VEB Gustav Fischer Verlag 19. Auflage - Jena | (1955) |
| Suzuki, U., Yoshimura, Y., Takaishi, M. | Tokyo Imp.Univ.Coll.Agric. Bull. 7 S.503 | (1907) |
| Takamatsu, H. | Trans-Soc.Path.Japan 29 S.492 | (1939) |
| Takeuchi, T. | J.Histochem.Cytochem. 6 S.208 | (1958) |
| Takeuchi, T., Nogami, S. | Acta path.jap. 4 S.277 | (1954) |
| Tonutti, E. | Normale Anatomie der endokrinen Drüsen und endokrine Regulation Die Ovarien in: Kaufmann-Staemmler Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie Bd.I 2.Hälfte Verlag Walter de Gruyter & Co. Berlin - S.1323 | (1956) |

| | | |
|---|---|---|
| Tonutti, E., Matzner, K.H. | Zschr. mikrosk. -anat. Forsch. (Leipzig) 42 S. 193 | (1937) |
| Verzár, F., Mc. Dougall, E.J. | Absorption from the Intestine Longmans - London | (1936) |
| Wallart | (zitiert nach Halban-Seitz s.o.) | (1904) |
| Watzka, M. | Das Ovarium Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen III. Teil: Weibliche Genitalorgane Ergänzung zu Bd. VII, 1 Springer Verlag Berlin/Göttingen/Heidelberg | (1957) |
| White, R.F., Hertig, A.T., Rock, J., Adams, E. | Contr. Embryol., Carnegie-Inst. 34 S. 55 | (1951) |
| Wimsatt, W.A. | Anat. Rec. 103 S. 564 | (1949) |
| Wiczynski, T. | (zitiert nach Halban-Seitz s.o.) | |
| Yao, T. | Quart. J. micr. Sci. 91 S. 79 | (1950) |
| Yasudo, T., Doi, K. | Med. J. Osaka Univ. 4 S. 241 | (1953) |

# L e b e n s l a u f

Am 9. November 1933 wurde ich, Barbara Uhsadel, als Tochter des damaligen Pastors, jetzigen Universitätsprofessors D. Dr. Walter Uhsadel und seiner Ehefrau Dore geb. Blütchen in Hamburg geboren.

Die Grundschule besuchte ich in Hamburg und Bad-Schönfliess Neumark. In Cuxhaven kam ich 1945 in die Oberschule und wechselte im Frühjahr 1951 an die Oberschule für Mädchen im Alstertal zu Hamburg. Im März 1953 bestand ich dort das Abitur.

Anschließend studierte ich 5 Semester an der staatlichen Schauspielschule in Hamburg und war 2 Jahre als Schauspielerin tätig.

Vom Wintersemester 1957 an studierte ich an der Universität Hamburg Medizin. Dort bestand ich im August 1958 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und setzte das Studium an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen fort. Die ärztliche Vorprüfung legte ich im April 1960 ab und beendete mein Studium im Juli 1963 mit dem Staatsexamen.

Fotodruck Frau Elly HUTH Tübingen